

·研究报告·

体外反搏的生物力学效应与血管内皮功能

伍贵富^{1,2}, 杜志民^{1,2}, 方典秋^{1,2}, 徐明国², 马虹^{1,2}, 郑振声^{1,2}, 王奎健¹
(中山大学 1. 卫生部辅助循环重点实验室, 2. 附属第一医院心内科, 广东 广州 510080)

摘要: 体外反搏通过反搏过程中产生的双脉动血流, 加速动脉系统的血液流动, 提高血流切应力, 进而调控与血管内膜保护有关的细胞因子, 产生对抗动脉粥样硬化的有益作用。本文简要总结近 10 年来本实验室在体外反搏与血管内皮细胞形态、功能关系方面的研究工作, 重点阐述其血流动力学特点和对冠心病患者及实验动物血浆及组织中某些重要的生物活性物质的影响。单独体外反搏, 或与其他治疗方法配合, 可能成为一项有效的促进血管内皮细胞结构与功能修复的重要手段。与反搏作用相关的细胞分子基础及其信号转导途径尚有待进一步阐明。

关键词: 血管内皮细胞; 切应力; 一氧化氮; 反搏

中图分类号: R540.1

文献标识码: A

文章编号: 1672-3554(2005)02-0121-04

Impact of Enhanced External Counterpulsation on Biomechanics and Vascular Endothelial Function

WU Gui-fu^{1,2}, DU Zhi-min^{1,2}, FANG Dian-qiu^{1,2}, XU Ming-guo², MA Hong^{1,2},
ZHENG Zhen-sheng^{1,2}, WANG Kui-jian¹(1. Key Laboratory of Assisted Circulation, Health Ministry of China, 2. Department of Cardiology,
The First Affiliated Hospital, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract: Enhanced external counterpulsation (EECP), offers a potential role in regulation of vasoprotective cytokines and growth factors by creating the double-pulse flow during counterpulsation, speeding velocity, as well as promoting shear stress to injured endothelial cells, which profoundly contributes to atherosclerosis. In this article we reviewed 10-year EECP studies in our laboratory into several fields including the special hemodynamic features, impact on some circulating cytokines and growth factors in patients with coronary heart diseases and experimental animals. EECP, alone and in combination with other approaches, may serve as an important non-invasive method to restore endothelial dysfunction. Further investigations are needed for EECP to clarify its biological mechanism and signal pathways.

Key words: vascular endothelial cell; shear stress; nitric oxide; counterpulsation

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2005,26(2):121-124,137]

体外反搏的临床应用与基础研究已经历了 20 余年, 目前国内体外反搏的临床与基础研究水平处于国际领先地位, 已经积累了大量的研究资料。多年来的研究成果证实体外反搏的生物力学效应与血管内皮功能有着非常密切的关系。本文就 10 多年来本实验室在体外反搏与血管内皮细胞功能方面的研究工作做一总结。

1 血管内皮系统功能的新发现

一个成年人的血管内皮细胞多达 1 000 亿个, 覆盖血管内膜的面积达 400~500 m², 总质量约 1.5 kg, 与人肝脏的质量相当。过去只把它作为血管内的光滑表面防止血管内发生凝血。近 10 年来, 一

收稿日期: 2004-08-16

基金项目: 国家九五攻关基金资助项目(99M4603G); 国家十五攻关基金资助项目(2001BA706B07); 国家自然科学基金仪器专项基金资助项目(4103048); 广东省科委攻关基金资助项目(9827803)

作者简介: 伍贵富(1964-), 男, 四川资阳人, 博士, 美国哈佛大学医学院 Beth Israel Deaconess 医学中心心脏科血管新生研究中心博士后, 研究员. E-mail: wuguifu@gzsums.edu.cn

系列的研究发现内皮细胞的功能非常复杂,且十分活跃,是一个相对独立的自分泌和旁分泌器。

在血液流动过程中,血流对血管内皮细胞产生了一种与血流方向一致的冲刷(摩擦)力,称为切应力。在高血流切应力冲刷下,内皮细胞呈梭形,其长轴沿血流方向一致,这种内皮细胞分泌舒张血管、抑制血小板聚集、抗凝、纤溶、抑制平滑肌增生的活性物质;而在无切应力、低血流切应力或涡流的情况下,内皮细胞形态及排列不规则,其所合成及分泌的是收缩血管,促进血小板聚集及血栓形成,促平滑肌细胞增生等促动脉粥样硬化作用的物质。内皮细胞的这种形态改变是一种主动适应的过程。在血流冲刷下,内皮细胞的骨架——应力纤维沿血流方向排列,而且数量增加。这种改变对血流和内皮细胞均有益处,表现在:减少对内皮细胞的拖拽力;加强内皮细胞对基质的黏附力^[1]。刘琼等^[2]发现体外反搏所产生的双脉动血流可影响内皮细胞 c-sis 基因的表达,这种基因表达模式的改变对内皮细胞的形态和分泌功能有重要影响。大量实验证实:“血管内皮损伤和血管内皮细胞功能障碍是动脉粥样硬化发展的始动和关键环节”以及“动脉损伤多发生在低切应力的部位,提高血流切应力(即血流对血管内表面的摩擦力)可逆转血管内皮细胞功能障碍,促进内皮细胞功能修复”,这些观点已成为血管生物学领域的共识^[3]。

2 体外反搏时的血流动力学特征及其对血管内皮细胞作用的生物力学基础

体外反搏是在心脏舒张期序贯地加压于小腿、大腿和臀部,驱动血液向主动脉返流,产生舒张期增压波。由此出现的双脉动血流是体外反搏独特的血流动力学特征。反搏过程中双脉动血流,既增加组织器官的血液灌注,又提高了血流切应力。按成人平均心率 70 min^{-1} 计算,每小时反搏将产生 4 200 次舒张期增压波,乘上反搏总时间 36 h,则血管受到的血流冲刷将额外增加 15 万次左右。这种双脉动方式及其强度对动脉系统的作用是其其他治疗方法不可能实现的。在急性心肌缺血动物模型上,观察体外反搏对犬头臂干动脉的切应力的影响,证实随着反搏时间延长,心肌缺血犬头臂干动脉切应力的正向峰值、负向峰值、平均切

应力和切应力的变化范围均显著增加^[4]。体外反搏中颈动脉内壁所受平均切应力明显大于治疗前,脉动切应力可高达 $4.0\sim 5.0 \text{ Pa}$ ^[5]。不管是正常志愿者还是心脑血管病人,体外反搏是当气囊压升高达 0.40 kg/cm^2 ,其舒张期增压波可达到 $150\sim 170 \text{ mmHg}$ 。体外反搏在提高机体上半身血流灌注压的同时,显著增加全身动静脉系统的血流量和流速。动物实验证实,体外反搏时冠状动脉、颈动脉和肾动脉的平均血流量可分别增加 $18.24\% \pm 2.01\%$ 、 $19.38\% \pm 1.47\%$ 和 $9.42\% \pm 0.94\%$ ^[4,6,7]。体外反搏的双脉动血流及其切应力刺激对血管内皮的生长和损伤修复所带来的影响程度和范围目前还不十分清楚,但有两点可以肯定:其一,体外反搏增加了血流速度和切应力;其二,切应力的增加能促进血管内皮细胞合成并分泌、表达一系列有利于血管内皮修复、抗氧化、抗动脉粥样硬化损伤的生物活性物质。与此同时,血管内皮细胞被拉长,其长轴与流场方向趋向一致这种变化与切应力大小和持续时间有关。这种形态结构的变化可能是其功能变化的基础。

3 体外反搏对血管内皮相关活性物质的影响

在早期的研究中发现,反搏开始后血心钠素水平随即升高,停止反搏后逐渐下降,24 h 内恢复正常。这种现象可能与反搏时静脉回心血量增加、右心房压力增高,从而使心房壁细胞分泌心钠素增加有关,提示神经内分泌机制参与了体外反搏的作用过程。随着研究的不断深入,越来越多的证据表明体外反搏疗效与血管内皮相关活性物质的变化有关。

3.1 前列环素与血栓素

在内皮细胞中,花生四烯酸在环氧化酶作用下,分别通过前列腺素合成酶和血栓素合成酶合成前列环素 (prostacyclin, PGI_2) 和血栓素 A_2 (thromboxane A_2 , TXA_2)。 PGI_2 是体内强有力的血小板抑制物,并具有扩血管的作用; TXA_2 可促进血小板聚集和血管收缩。 $\text{PGI}_2/\text{TXA}_2$ 比值下降是动脉粥样硬化发生发展的机制之一^[8]。我室对 52 例接受体外反搏治疗的冠心病病人 $\text{PGI}_2/\text{TXA}_2$ 稳定的代谢终产物血浆 6-keto-PGF_{1a} 和 TXB_2 水平进行了系列观察。反搏 1 h 后血浆 6-keto-PGF_{1a} 水

平明显升高 (248.18 ± 29.42) pg/mL vs (179.61 ± 22.32) pg/mL, $P < 0.001$, 6-keto-PGF_{1 α} /TXB₂ 比值增加 (2.89 ± 0.23) vs (1.85 ± 0.23), $P < 0.001$ 。反搏 3 个疗程后 (36 h) 上述效果仍然保持^[9]。体外反搏可以促进 PGI₂ 释放, 增加 PGI₂/TXA₂ 比值可能是体外反搏治疗冠心病的机制之一。

3.2 一氧化氮与内皮素

一氧化氮 (nitric oxide, NO) 与内皮素 (endothelin, ET) 在动脉粥样硬化发生、发展过程中有重要意义。NO 具有强烈的扩张血管, 抑制血小板黏附、聚集和血管平滑肌细胞增殖的作用; ET 则具有相反的生理学效应, 从而在血循环中二者形成动态平衡。我室观察 43 例体外反搏治疗的冠心病患者在反搏前、反搏 1、12、24、36 h, 以及反搏 1、3 月后 NO、ET 和 ET/NO 的水平。NO 水平在体外反搏治疗后明显增加; ET 的 ET/NO 比值在体外反搏治疗后明显下降。表明体外反搏可以促进血管舒张因子 NO 的增加和抑制血管收缩因子 ET 产生^[10, 11]。动物实验中也观察到反搏对 NO 系统的影响。利用狗失血休克模型探讨体外反搏对心肌、主动脉组织一氧化氮合酶活性的影响。研究结果显示: 假手术对照组均高于单纯失血性休克组和失血性休克加反搏组, 而失血性休克加反搏组又高于单纯失血性休克组 ($P < 0.05$)。反搏后心肌及主动脉处一氧化氮合酶活性的增强, 导致 NO 的合成增加, 使冠状动脉扩张心肌氧供得到改善^[12]。

3.3 cAMP 和 cGMP

观察发现冠心病患者接受体外反搏治疗后血浆 cAMP 和 cGMP 水平均明显增加, 并随反搏时间的延长而增加, 到反搏第 3 疗程时达到最高峰, 反搏停止 1 个月后仍然高于治疗前。对照组病人则没有类似的变化^[13]。关于体外反搏对循环 cAMP 和 cGMP 水平的影响, 目前国内的报告还不尽一致, 可能与病例选择标准和样本大小有关。cAMP 和 cGMP 分别是 PGI₂、NO 发挥生理作用的介导体, 反搏过程中这几种生物活性物质的相互影响和上调提示体外反搏对血管内皮功能的调动可能具有一定的方向性。

3.4 心肌组织和循环中血管内皮细胞生长因子的浓度改变

血管内皮细胞生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 是一种重要的内皮活性物质, 它能促进血管内皮细胞的有丝分裂、迁移和增殖,

对维持血管内皮细胞的正常生理功能有重要意义。VEGF 在正常人和动物组织中表达水平较低。在病理条件下如缺血心肌和肿瘤组织中, VEGF 在 mRNA 水平和蛋白质水平均有明显表达。我室实验观察发现体外反搏时, 血清 VEGF 浓度呈稳定上升, 反搏 36 h 后达最大值, 但与对照组 VEGF 水平无显著性差异。心肌组织中 VEGF 表达在蛋白质和 mRNA 水平均明显高于对照组, 差异有统计学意义^[14]。体外反搏时, 心肌组织中 VEGF 蛋白及 mRNA 水平提高利于心肌缺血组织侧枝循环的形成, 从而改善心肌缺血^[15]。

3.5 组织型纤溶酶原激活物和纤溶酶原激活物抑制物

内皮细胞可以分泌组织型纤溶酶原激活物 (tissue-type plasminogen activator, t-PA) 和纤溶酶原激活物抑制物 (plasminogen activator inhibitor, PAI)。t-PA 可以特异性激活纤溶酶原, 从而水解纤维蛋白; PAI 则是一种特异性纤溶抑制剂, 它可与 t-PA 结合失活。t-PA 和 PAI 在血液中的平衡在保持机体正常的纤溶状态方面有重要作用。多项研究表明, 体外反搏可以提高冠心病患者血清 t-PA 浓度, 而降低 PAI 浓度。方氏观察发现冠心病患者 EECF 1 h 即刻血浆 tPA 从反搏前的 (6.11 ± 2.11) U/mL 上升至 (8.41 ± 2.92) U/mL, $P < 0.01$, PAI 由治疗前的 (13.67 ± 2.81) U/mL 降至 (11.51 ± 2.80) U/mL, $P < 0.01$ ^[16]。t-PA/PAI 的比值增加缓解了血液的高凝状态, 降低了血栓形成的可能性, 甚至会促进小血栓的溶解。

3.6 其它

内皮细胞的损伤不单是动脉粥样硬化的始动因素, 而且往往成为心脑血管事件的促发因素。血浆中 von Willebrand 因子和细胞间黏附分子浓度, 是目前临床上较为重视的反映内皮细胞损伤的血清标记物。除外急性感染、手术或外伤的情况下, 如果血液中 von Willebrand 因子和细胞间黏附分子浓度增加, 往往表明动脉粥样硬化进展和内皮细胞功能障碍。我室曾观察犬进行体外反搏前后 von Willebrand 因子和细胞间黏附分子血清浓度变化, 可惜未发现明显的变化趋势^[17]。有证据表明, 体外反搏治疗可以降低失血性休克犬体内升高的血浆丙二醛 (malonaldehyde, MDA) 含量, 同时增加超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 活性, 表明体外反搏减少休克时氧自由基产生减

少,减少氧自由基对内皮细胞损伤,有利于休克恢复^[18,19]。

此外,动物实验还发现体外反搏可减低心肌组织局部血管紧张素转化酶(angiotensin-converting enzyme, ACE)活性和血管紧张素Ⅱ(angiotensin Ⅱ, ANG Ⅱ)水平^[20,21],减轻血管收缩程度、抑制心肌重构,从而改善心脏的舒缩功能。

4 体外反搏改善代谢综合征患者血管内皮依赖性舒张功能和胰岛素抵抗

代谢综合征是中心性肥胖、高血压、糖尿病/糖耐量异常、脂质代谢紊乱等心血管危险因素聚集于同一个体的临床综合征。胰岛素抵抗在代谢综合征的病因机制中处于中心地位。胰岛素抵抗与内皮功能障碍之间具有相互影响,相互促进的作用。高分辨率血管超声检测肱动脉血流介导的内皮依赖性舒张功能(flow-mediated dilation, FMD)是评估内皮功能的一种新手段,它通过检测肱动脉的反应性充血和含服硝酸甘油前后血管内径及血流量变化来评价血管的内皮功能,按严谨的操作规程可有较好的重复性和稳定性。我们观察代谢综合征 50 例,随机分配进行体外反搏治疗 20 例药物对照 30 例,正常对照组 25 例。结果:反搏治疗后空腹血糖、血清胰岛素水平明显下降,分别为 $(5.61 \pm 0.85) \times 10^3$ U/L *vs* $(5.19 \pm 0.81) \times 10^3$ U/L 和 $(17.91 \pm 4.70) \times 10^3$ U/L *vs* $(10.03 \pm 2.72) \times 10^3$ U/L, $P < 0.001$ 。胰岛素敏感指数明显升高 (-1.981 ± 0.15) *vs* (-1.694 ± 0.162) , $P < 0.001$,提示体外反搏改善胰岛素作用敏感性。这可能与反搏改善内皮功能,NO 生成增加,骨骼肌血流增加,微循环改善,胰岛素经内皮向间质转运加速,促进骨骼肌对葡萄糖摄取等有关,胰岛素抵抗减轻可能进一步减少内皮细胞损害,形成良性循环。

5 总结与展望

综上所述,体外反搏通过改变体内血流动力学状态,增加血流切应力,不但直接增加心脏灌注,而且能够改善内皮细胞的结构和功能。体外反搏作用后,内皮细胞合成 PGI₂、NO 和 t-PA 增加,同时 TXA₂、ET 和 PAI 合成减少。体外反搏增加心肌组织内 VEGF 浓度,可能会影响心肌组织中内

皮分裂、增殖和迁移从而增加侧枝循环发生。

体外反搏近年来在美、德、日等国家日益受到重视。据国际体外反搏注册中心 5 000 余例的统计,接受体外反搏治疗的病例 83.7% 是经过冠状动脉旁路移植术或/及经皮冠状动脉内成形术后的复发者,效果良好;还有报道体外反搏应用于经皮冠状动脉内成形术后以防止再狭窄,观察 6 个月结果,再狭窄率降低 7.6%,估计可能与体外反搏改善内皮细胞功能从而抑制平滑肌细胞增生有关。体外反搏的生物力学效应使内皮细胞发生了有益的形态、结构和功能变化。其具体机制还不十分清楚,特别是与血流切应力相关的细胞分子基础及其信号转导途径有待进一步阐明。

参考文献:

- [1] 刘琼. 血流动力学的调节及其与内皮基因的关联—数学模型和实验研究[D]. 重庆:重庆大学,1996.
- [2] Liu Q, Zheng ZS, Zhan CY. The Relation between hemodynamics and c-sis mRNA of EC[J]. Med Biol Eng Comput, 1997, 35(1): S147-7.
- [3] Lüscher TF, Tanner FC, Tschudi MR, et al. Endothelial dysfunction in coronary artery disease[J]. Ann Rev Med, 1993, 44(3): 395-418.
- [4] 周少春. 体外反搏对血流动力学状态,微循环和内皮功能的调节作用[D]. 广州:中山大学北校区,1998.
- [5] 郑强荪. 体外反搏治疗冠心病机理的临床和基础研究[D]. 广州:中山大学北校区,1996.
- [6] 钱孝贤. 体外反搏防治心肌缺血的一氧化氮机制探讨[D]. 广州:中山大学北校区,1999.
- [7] 梁子韶,郑振声,黄伟,等. 心电标测、冠脉流量检测与组织学检查综合评价体外反搏对心肌血流的影响[J]. 现代医学仪器与应用, 1992, 4(2):23-5.
- [8] 刘革乐,郑振声,张育君,等. 体外反搏对冠心病患者血浆 6-酮-前列腺素 F1α 和血栓素 B2 的影响[J]. 现代医学仪器与应用, 1992,4(2):11-4.
- [9] 郑振声,刘革乐,张东辉,等. 体外反搏对冠心病患者血浆 6-Keto-PGF1α/TXB2 和 ANP 的影响[J]. 现代医学仪器与应用, 1994,6(2):6-7.
- [10] 伍贵富,郑强荪,郑振声,等. 体外反搏对冠心病病人血管内皮细胞功能的影响[J]. 国际心血管病杂志, 1999, 1(1):32-5.
- [11] Qian XX, Wu WK, Zheng ZS, et al. Effect of enhanced external counterpulsation on nitric oxide production in coronary disease[J]. J Heart Dis, 1999, 1(1):193-3.
- [12] 蒋涛,顾熊飞,马涧泉,等. 体外反搏治疗失血性休克中一氧化氮合酶的变化[J]. 中国病理生理杂志, 1998, 14(3):243-5. (下转第 137 页 to page 137)

存在密切的关系。

本研究结果显示,与高加索人群比较,我国汉族人群C等位基因频率明显升高(10.0% vs 1.0%),并因此导致含BC、AC基因型频率升高(11.4%、4.5% vs 0.6%、1.4%),存在显著性差异。已知IgA肾病与IgA代谢紊乱密切相关,免疫球蛋白IgA1的血清含量增加及其O-糖链的糖基化异常是IgAN的发病机制之一^[9]。与高加索人群比较,我国是IgA肾病高发地区,这种发病率明显的地域和种族差别,是否与两种人群 $hs1,2$ 基因或 $hs1,2$ 蛋白多态性差别有关值得进一步探讨。

参考文献:

- [1] Manabu S, Hiroko M, Masami H, *et al.* Eating disorders with binge-eating behaviour are associated with the s allele of the 3'-UTR VNTR polymorphism of the dopamine transporter gene [J]. *Rev Psychiatr Neurosci*, 2004, 29(2):134-7.
- [2] Tovar D, Faye JC, Favre G. Cloning of the human RHOB gene promoter: characterization of a VNTR sequence that affects transcriptional activity [J]. *Genomics*, 2003, 81(5):525-30.
- [3] Nakamura Y, Koyama K, Matsushima M, *et al.* VNTR (variable number of tandem repeat) sequences as transcriptional, translational, or functional regulators[J]. *J Hum Genet*, 1998,43(3):149-52.
- [4] Khamlichi AA, Pinaud E, Decourt C, *et al.* The 3' IgH regulatory region: a complex structure in a search for a function[J]. *Adv Immunol*, 2000, 75(1):317-45.
- [5] Pinaud E, Aupetit C. Identification of a homolog of the C α 3'/hs3 enhancer and of an allelic variant of the 3' IgH/hs1,2 enhancer downstream the human immunoglobulin $\alpha 1$ gene[J]. *Eur J Immunol*, 1997, 27(11):2981-5.
- [6] Aupetit C, Pinaud E. Alleles of the $\alpha 1$ immunoglobulin gene 3' enhancer control evolution of IgA nephropathy toward renal failure[J]. *Kidney Int*, 2000, 58(3):966-71.
- [7] Denizot Y, Pinaud E. Polymorphism of the human $\alpha 1$ immunoglobulin gene 3' enhancer $hs1,2$ and its relation to gene expression[J]. *Immunology*, 2001,103(1):35-40.
- [8] Ong J, Stevens S. 3' IgH enhancer elements shift synergistic interactions during B cell development [J]. *J Immunol*, 1998, 160(10): 4896-903.
- [9] Barratt J, Feehally J, Smith AC, *et al.* Pathogenesis of IgA nephropathy[J]. *Semin Nephrol*, 2004, 24(3):197-217.
- [10] Van den Wall Bake AW, Daha MR, Evers-Schouten J, *et al.* Serum IgA and the production of IgA by peripheral blood and bone marrow lymphocytes in patients with primary IgA nephropathy: evidence for the bone marrow as the source of mesangial IgA [J]. *Am J Kidney Dis*, 1988, 12(5):410-4.

(编辑 张敦瑞)

(上接第124页 from page 124)

- [13] 张苗青,伍贵富,郑振声,等.体外反搏对冠心病患者血浆cAMP和cGMP及其比值的影响[J].*中国病理生理学杂志*,1997,13(2):150-2.
- [14] 伍贵富.体外反搏促新生血管及冠脉侧枝循环形成作用及其细胞分子机制的实验研究[D].广州:中山大学北校区,2000.
- [15] 伍贵富,杜志民,胡承恒,等.长期体外反搏对犬急性心肌梗死心肌侧枝循环的影响[J].*中山医科大学学报*,2002,23(6):411-3.
- [16] 方勇飞.体外反搏加用补阳还五汤治疗对冠心病患者t-PA、PAI及植物神经功能状态的影响[D].广州,中山大学北校区,1992.
- [17] 柳俊.体外反搏逆转冠脉内皮功能障碍的临床和实验研究[D].广州:中山大学北校区,2003.
- [18] 谭红梅,吴伟康,郑振声,等.体外反搏对失血性休克犬心肌能量及自由基代谢的影响[J].*中国病理生理学杂志*,1998,14(6):631-2.
- [19] Qian XX, Wu WK, Zheng ZS, *et al.* Effect of enhanced external counterpulsation on lipid peroxidation in coronary disease[J]. *J Heart Dis(abstr)*, 1999,1(1):116.
- [20] 陆丽,吴伟康,郑振声,等.增强型体外反搏对犬急性心肌缺血时血管紧张素转换酶的影响[J].*中国病理生理学杂志*,1999,15(2):1064-6.
- [21] 王西富.体外反搏对代谢综合征患者血管内皮功能的影响[D].广州:中山大学北校区,2004.

(编辑 黄小廷)