

急性冠脉综合征中乙酰肝素酶表达及血小板和 D - 二聚体计数的观察

其布尔¹, 刘琼², 包海梅², 周丽芹², 蔺雪峰², 韩轩茂²

(1. 内蒙古科技大学包头医学院研究生学院, 内蒙古 包头 014040;

2. 内蒙古科技大学包头医学院第一附属医院心内一科)

[摘要] 目的: 检测急性冠脉综合征(ACS)患者外周血单核细胞中乙酰肝素酶(HPSE)表达水平; 观察血小板和 D - 二聚体计数; 探讨 HPSE、血小板和 D - 二聚体在 ACS 中的作用及临床意义。方法: 共纳入包头医学院第一附属医院心内科住院患者 150 例, 按照临床诊断分为三组: 正常对照组、不稳定性心绞痛(UA)组和急性心肌梗死(AMI)组, 实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)法检测患者外周血单核细胞中 HPSE mRNA 表达水平。并常规检测外周血血小板计数及 D - 二聚体水平。结果: (1) 与对照组相比, 无论 UA 组或 AMI 组中, HPSE 表达均升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$); (2) AMI 组与 UA 组比较, HPSE 虽升高, 但差异未见统计学意义; (3) 对照组与 UA 组及 AMI 组之间 D - 二聚体及血小板计数相关性分析未见明显统计学差异($P > 0.05$)。结论: ACS 患者外周血中 HPSE 表达水平与对照组比较显著升高, 提示 HPSE 是 ACS 发病的重要因素, 可能参与了 ACS 的发病。

[关键词] 急性冠状动脉综合征; 乙酰肝素酶; 血小板; D - 二聚体

DOI: 10.16833/j.cnki.jbmc.2021.01.006

Observation of heparanase expression and platelet and D - dimer count in acute coronary syndrome

Qibuer¹, LIU Qiong², BAO Haimei², ZHOU Liqin², LIN Xuefeng², HAN Xuanmao²

(1. Graduate School, Baotou Medical College, Inner Mongolia University of Science and Technology, Baotou 014010, China; 2. Department One of Cardiology, the First Affiliated Hospital of Baotou Medical College, Inner Mongolia University of Science and Technology)

ABSTRACT Objective: To detect the heparanase expression (HPSE) level in peripheral blood mononuclear cells of patients with acute coronary syndrome (ACS), to observe the counts of platelets and D - dimer, and to explore the role of HPSE, platelets and D - dimer in ACS and their clinical significance. **Method:** A total of 150 inpatients from the Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital of Baotou Medical College were enrolled and divided into three groups according to clinical diagnosis: normal control group, unstable angina pectoris (UA) group and acute myocardial infarction (AMI) group. Real-time fluorescent quantitative PCR (qRT-PCR) method was used to detect the

expression level of HPSE mRNA in peripheral blood mononuclear cells , and the routine detection of peripheral blood platelet count and D - dimer level was made. **Results:** (1) Compared with the control group , the expression of HPSE increased in both the UA group and the AMI group , and the difference was statistically significant ($P < 0.05$); (2) Compared with the UA group , the HPSE was higher in the AMI group , but the difference was not statistically significant; (3) There was no significant statistical difference in the correlation analysis of D - dimer and platelet counts between the control group and the UA group and the AMI group ($P > 0.05$) . **Conclusion:** The expression level of HPSE in the peripheral blood of ACS patients was significantly higher than that in the control group , suggesting that HPSE is an important factor in the pathogenesis of ACS and may be involved in the pathogenesis of ACS.

KEY WORDS Acute coronary syndrome; Heparanase; Platelet; D - dimer

急性冠状动脉综合征(acute coronary syndrome , ACS) 包括不稳定型心绞痛(unstable angina ,UA) , 非 ST 段抬高型心肌梗塞(non - ST - segment elevation myocardial infarction ,NSTEMI) 以及 ST 段抬高型心肌梗死(ST - segment elevation myocardial infarction ,STEMI) 。 AC 早期风险分层可以帮助临床医生确定早期治疗策略。乙酰肝素酶表达(heparanase , HPSE) 是哺乳动物体内唯一一种能够降解细胞外基质中硫酸乙酰肝素蛋白多糖的 β - D - 葡萄糖醛酸内切酶^[1]。研究发现 ,HPSE 在 ACS 发病过程中起着重要的作用; 血小板在动脉粥样硬化斑块和血栓的形成中发挥至关重要的作用; D - 二聚体也是凝血状态和血栓形成形式的生物标志物^[2] ,D - 二聚体可能是 ACS 高危患者的重要危险因素。本研究主要观察 HPSE、血小板、D - 二聚体在 ACS 中的表达 ,进一步探讨其在 ACS 发病发展中的临床价值。

1 对象与方法

1.1 对象 共选取 2016 年 12 月至 2018 年 6 月包头医学院第一附属医院心内科住院患者共 150 例; 均行冠状动脉造影检查 ,冠状动脉主干或一级分支狭窄 $\geq 50\%$ 或二级分支狭窄 $\geq 70\%$ 者纳入试验组; 有胸痛症状的住院期间经冠脉造影提示未见明显狭窄病变不能诊断 CHD 者纳入对照组。研究对象分为三组 ,即(1) UA 组患者共 50 例 ,其中男性 38 例 ,女性 12 例 ,年龄 41 ~ 83 岁 ,平均年龄(62.36

± 9.51) 岁。(2) AMI 组患者共 50 例 ,其中男性 38 例 ,女性 12 例 ,年龄 41 ~ 79 岁 ,平均年龄(62.59 ± 10.01) 岁。(3) 对照组 患者共 50 例 ,其中男性 19 例 ,女性 31 例 ,年龄 37 ~ 77 岁 ,平均年龄(58.20 ± 9.15) 岁。

1.2 方法 研究对象在住院当日空腹状态下抽取肘静脉血 6 mL ,采用实时定量 PCR 法检测外周血单核细胞中 HPSE mRNA 的表达水平。常规检测外周血血小板计数及 D - 二聚体水平。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 24.0 软件进行数据的统计学分析 ,计量资料采用($\bar{x} \pm s$) 表示 ,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

UA 组和 AMI 组的 HPSE 表达水平均高于对照组($P < 0.05$) ,UA 组与 AMI 组间无明显统计学差异($P > 0.05$); 大血小板比率、血小板计数、D - 二聚体水平在对照组与 UA 组及 AMI 组之间比较分析未见明显统计学差异($P > 0.05$) 。见表 1。

表 1 各组间相关指标的比较($\bar{x} \pm s$, $n = 50$)

指标	对照组	UA 组	AMI 组
HPSE	1.076 \pm 0.526	3.764 \pm 1.481 ^a	2.480 \pm 2.406 ^a
血小板计数($10^9/L$)	224.314 \pm 57.483	209.200 \pm 55.605	213.980 \pm 57.656
大血小板比率(%)	29.888 \pm 11.657	32.356 \pm 8.590	33.190 \pm 7.725
D - 二聚体(ug/mL)	0.261 \pm 0.854	0.131 \pm 0.080	0.285 \pm 0.354

注: a 为与对照组比较 , $P < 0.05$

3 讨论

ACS 描述心肌缺血状态的范围 ,UA 和 AMI 发

生均由冠状动脉粥样硬化斑块的突然破裂或动脉粥样硬化性血栓形成引起。动脉粥样硬化基础上血栓的形成与炎症有着密切的关系。在 ACS 中 HPSE 促进稳定性斑块转变为易损斑块^[3]。HPSE 可通过介导硫酸乙酰肝素 (heparan sulfate, HS) 的酶重塑来影响炎症反应过程,包括白细胞聚集、渗出和迁移、释放炎症细胞因子和趋化因子以及激活固有免疫细胞^[4]。冠状动脉粥样硬化的炎症斑块中的上皮及内皮中 HPSE 有明显表达,炎症细胞因子进一步诱导内皮和(或)上皮细胞释放 HPSE^[5]。在新生血管内膜中 HPSE 激活巨噬细胞进而促进炎症的发生,使冠脉内稳定性斑块转变为易损斑块^[5]。HPSE 增强组织因子 (tissue factor, TF) 的活性和含量,增加组织因子途径抑制物 (tissue factor pathway inhibitor, TFPI) 的含量。THPSE 与细胞表面上的 TFPI 相互作用,使 TFPI 从细胞膜解离,导致细胞表面凝血活性增加^[6],因此 HPSE 在血液高凝状态中起到一定的作用,进一步促进血栓的形成。

ACS 的发生通常与冠状动脉中易损斑块的存在有关,并在由破裂的动脉粥样斑块形成的血栓导致冠状动脉的官腔闭塞。易损斑块的破裂导致继发于血小板活化的管腔血栓形成和动脉粥样硬化病变内血栓形成元素的释放^[7]。血小板的活化导致诸如血栓烷 A₂ 和 5-羟色胺 (5-HT) 的分子分泌,从而引起血管收缩^[8]。血小板衍生生长因子 (PDGF), β -球蛋白 (β -TG) 和血小板因子 4 (PF4), 可刺激动脉硬化;白三烯增强炎症反应;糖蛋白 IIb/IIIa 受体激活血液系统以促进血小板聚集和血栓形成^[8]。

D-二聚体是纤维蛋白的一种降解产物^[2],也是凝血状态和血栓形成形式的生物标志物^[2]。研究证明,D-二聚体升高与易损斑块^[9]、ACS 远期死亡率增加相关^[10]。D-二聚体与接受 PCI 的 ACS 患者的院内死亡率独立相关^[2]。D-二聚体可能是 ACS 高危患者的重要危险因素。

本实验结果显示,与对照组相比,无论 UA 组或 AMI 组中,HPSE 表达均升高,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);AMI 组与 UA 组比较,HPSE 虽升高,

但差异未见统计学意义。提示在 ACS 中 HPSE 促进稳定性斑块转变为易损斑块,在血液高凝状态中起到一定的作用,进一步促进血栓的形成。

血小板计数和 D-二聚体在对照组、UA 组、AMI 组之间无统计学差异 ($P > 0.05$),本实验可能存在样本量少、抽样误差等有关。既往研究报道,在 ACS 患者中,由于疾病进展过程中内皮细胞的损伤和动脉粥样硬化斑块的形成,患者血小板聚集和血栓形成增加,就会消耗成熟的血小板^[8]。为了补偿血小板的损失,血小板生成素刺激巨核细胞并转化为多倍体巨核细胞,产生更多的未成熟的小血小板,增加其体积^[11]。此外,研究显示,与非 CAD 组相比,ACS 患者血小板中 TLR2 mRNA 表达的升高^[12]。血小板 TLR mRNA 表达的改变是炎症驱动动脉粥样硬化的结果,并且可能代表 ACS 中的另一种血小板活化途径^[13]。因此,血小板计数可能是 ACS 患者的独立预测因子。我们的研究中,血小板计数及血小板体积在对照组、UA 组、AMI 组之间无统计学差异,提示内皮细胞的损伤和动脉粥样硬化斑块破裂处的局部微环境,可能增加了血小板功能导致局部血栓形成。

D-二聚体在评估静脉血栓栓塞患者中已被用作诊断和预后的生物标志物,但其在 ACS 中的诊断及治疗价值仍欠佳。研究证实,稳定型冠状动脉疾病,ACS 和 ST 段抬高型心肌梗死 (STEMI) 患者较高的 D-二聚体与远期死亡率增加之间的相关性^[10,14]。D-二聚体是通过破坏和纤溶酶在损伤部位破坏纤维蛋白凝块而产生的,这代表了活性血栓的形成及其裂解^[15]。在 ACS 病理生理过程中,D-二聚体的产生速度快于其他标记物^[15]。另一方面,研究表明,D-二聚体与心血管疾病的发生或复发直接相关,AMI 和 UA 患者的血浆 D-二聚体水平高于无缺血事件的患者,而且,AMI 患者的血浆 D-二聚体高于 UA 患者^[15]。目前,尚未研究进行 D-二聚体在 ACS、UA、AMI 中的比较及诊断的影响。本研究中 D-二聚体在对照组、UA 组、AMI 组之间无明显差异,推测 ACS 发病中,凝血功能的紊乱,也主要发生在动脉粥样硬化斑块破裂处微环境部位,

全身凝血功能亢进尚不明显。

总之,HPSE 已参与 ACS 发病过程,且主要参与了破裂的动脉粥样斑块形成的血栓导致冠状动脉的官腔闭塞,很可能成为 ACS 中的新型危险因素。血小板及 D-二聚体是否成为 ACS 诊断新标志物需待进一步探究。

参考文献

- [1] Peterson S, Liu J. Deciphering mode of action of heparanase using structurally defined oligosaccharides [J]. *Biol Chem* 2012, 287(41): 34836-34843.
- [2] Yu T, Jiao Y, Song J, et al. Hospital mortality in acute coronary syndrome: adjustment of GRACE score by D-dimer enables a more accurate prediction in a prospective cohort study [J]. *BMC Cardiovasc Disord* 2019, 19(1): 252.
- [3] Blich M, Golan A, Arvatz G, et al. Macrophage activation by heparanase is mediated by TLR-2 and TLR4 and associates with plaque progression [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2013, 33(2): e56-e65.
- [4] Axelsson J, Xu D, Kang BN, et al. Inactivation of heparan sulfate 2-O-sulfotransferase accentuates neutrophil infiltration during acute inflammation in mice [J]. *Blood*, 2012, 120(8): 1742-1751.
- [5] Baker AB, Groothuis A, Jonas M, et al. Heparanase alters arterial structure, mechanics and repair following endovascular stenting in mice [J]. *Circ Res* 2009, 104(3): 380-387.
- [6] Falanga A, Marchetti M, Vignoli A. Coagulation and cancer: biological and clinical aspects [J]. *Thromb Haemost*, 2013, 11(2): 223-233.
- [7] Navas-Carrillo D, Marín F, Valdés M, et al. Deciphering acute coronary syndrome biomarkers: High-resolution proteomics in platelets, thrombi and microparticles [J]. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2017, 54(1): 49-58.
- [8] Huang HL, Chen CH, Kung CT, et al. Clinical utility of mean platelet volume and immature platelet fraction in acute coronary syndrome [J]. *Biomed J* 2019, 42(2): 107-115.
- [9] Kothari H, Nguyen AT, Yang X, et al. Association of D-dimer with Plaque Characteristics and Plasma Biomarkers of Oxidation-Specific Epitopes in Stable Subjects with Coronary Artery Disease [J]. *Journal of Cardiovascular Translational Research* 2018, 11(3): 221-229.
- [10] Simes J, Robledo KP, White HD, et al. D-Dimer Predicts Long-Term Cause-Specific Mortality, Cardiovascular Events, and Cancer in Patients With Stable Coronary Heart Disease [J]. *Circulation* 2018, 138(7): 712-723.
- [11] Martin JF, Kristensen SD, Mathur A, et al. The causal role of megakaryocyte-platelet hyperactivity in acute coronary syndromes [J]. *Nat Rev Cardiol* 2012, 9(11): 658-670.
- [12] Heger LA, Hortmann M, Albrecht M, et al. Inflammation in acute coronary syndrome: Expression of TLR2 mRNA is increased in platelets of patients with ACS [J]. *PLoS One* 2019, 14(10): e0224181.
- [13] Martirosyan A, Clendening JW, Goard CA, et al. Lovastatin induces apoptosis of ovarian cancer cells and synergizes With doxorubicin: potential therapeutic relevance [J]. *BMC Cancer*, 2010, 10: 103.
- [14] Mjelva OR, Ponitz V, Brugger-Andersen T, et al. Long-term prognostic utility of pentraxin 3 and D-dimer as compared to high-sensitivity C-reactive protein and B-type natriuretic peptide in suspected acute coronary syndrome [J]. *Eur J Prev Cardiol* 2016, 23(11): 1130-1140.
- [15] Reihani H, Sepehri Shamloo A, Keshmiri A. Diagnostic Value of D-Dimer in Acute Myocardial Infarction Among Patients With Suspected Acute Coronary Syndrome [J]. *Cardiol Res*, 2018, 9(1): 17-21.

(收稿日期: 2020-09-07)