[10] 黄珊,杨洋,孟庆雯,等.收缩压和舒张压的时间变化速率与老年高血压患者颈动脉粥样硬化的关系[J].实用医学杂志,2019,35(12):1944-1947.
[11] 刘小阳,郑桃林,刘超,等.血清 Nesfatin-1 水平与 2 型糖尿病合并高血压患者发生轻度认知功能障碍的相关性[J].医学临床研究,2022,39(3):349-351.
[12] 董亚楠,刘斌,胡琨,等.可溶性 CD40 配体、脂蛋白相关磷脂酶 A2 和超敏 C 反应蛋白与急性脑梗死患者颈动脉粥样硬化斑块形成及类型的相关性[J].兰州大学学报(医学版),2020,46(1):48-52.
[13] TIAN Y, FAN Y, CHEN L, et al. Changes and significance of serum monocyte chemoattractant protein-1 and Lp-PLA2 in patients with hypertension and coronary heart disease[J]. J Pak Med Assoc,2022,72(6):1114-1117.
[14] 陈辉,赵春芝,朱正太,等.老年 2 型糖尿病患者中性粒细胞/淋巴细胞比值、脂蛋白相关磷脂酶 A2 与颈动脉内-中膜厚度的相关性[J].中华老年多器官疾病杂志,2020,19(12):914-918.
[15] 王娟,刘志云,丁宏胜,等.冠状动脉粥样硬化性心脏病患者小而密低密度脂蛋白、脂蛋白相关磷脂酶 A2 和组织蛋白酶 S 水平与颈动脉粥样硬化的相关性[J].中华高血压杂志,2020,28(6):572-575.
[16] 沈健,张皓然,王枫,等.颈脑一体化超声联合 Hcy、hs-CRP 对冠状动脉粥样硬化病变程度的评估[J].影像科学与光化学,2023,41(1):96-101.

收稿日期:2023-09-08
(本文编辑:孙海儿)

eNOS/NO 通路与冠脉介入治疗术后再狭窄的相关性研究

黄杰,赵俊球,邹奇霖,丁路遥

【关键词】 急性冠脉综合征;冠脉介入治疗术;再狭窄;内皮一氧化氮合酶;一氧化氮
doi:10.3969/j.issn.1671-0800.2024.02.028
【中图分类号】 R541.4　**【文献标志码】** A　**【文章编号】** 1671-0800(2024)02-0239-04

冠心病的早期筛查和急性冠脉事件的风险预警对冠心病的早期治疗、延缓冠心病的发展进程和降低死亡率具有深远的意义。经皮冠状动脉介入治疗术(简称冠脉介入术)是目前临床最常用的治疗冠心病的重建血运方法之一,可较大程度地提高患者的生存率[1]。内皮一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase,eNOS)是一氧化氮(NO)生物合成中的主要限速酶[2]。血管和心脏的正常生理功能维持与心肌和血管内皮中 eNOS 的充分表达密切相关。研究报道,eNOS 促进生成的 NO 可显著加速缺血再灌注后动脉内皮状态和功能的恢复,促进缺血部位的微循环形成和改善缺血后心功能[3]。急性心肌梗死发生时,患者血清 eNOS 的含量会显著下调[4]。冠脉支架内再狭窄的主要病理生理机制为内皮过度增生和新生粥样斑块形成。以往研究表明,eNOS 过表达可抑制颈动脉内皮损伤大鼠模型内膜增生[5]。另外,激活 eNOS 表达可减少动脉粥样硬化小鼠动脉硬化斑块的生成。故 eNOS 可能是治疗冠脉支架内再狭窄的重要靶点[6]。本研究通过检测急性冠脉综合征患者冠脉介入术后血清 eNOS 和 NO 水平,探讨 eNOS/NO 通路与术后再狭窄的相关性,为冠脉综合征患者冠脉支架术后再狭窄提供新的预警指标,现报道如下。

1　资料与方法

1.1　一般资料　回顾性选取 2019 年 4 月至 2022 年 4 月丽水市中心医院心内科收治的 158 例行冠脉介入术的急性冠脉综合征患者为研究对象,其中男 102 例,女 56 例;年龄 34 ～ 78 岁,平均(52.3±11.6)岁。本研究获得丽水市中心医院伦理委员会科研伦理小组批准,所有研究对象均同意参加本研究并签署书面知情同意书。

纳入标准:(1)临床影像学、一般资料完整;(2)首次接受冠脉介入术;(3)经冠状动脉造影验证符合急性冠脉综合征的临床诊断标准[7]。排除标准:(1)心功能不全、ST 段抬高型、心脏瓣膜病、左束支传导阻滞者;(2)近期有重大型手术史者;(3)凝血功能障碍者;(4)肿瘤患者,预期生存期不足半年。

1.2　术后再狭窄评定　所有患者冠脉介入术后随访

基金项目: 丽水市科技计划项目(2020SJZC062)
作者单位: 323000 浙江省丽水,丽水市中心医院
通信作者: 黄杰,Email:jesses163@163.com

1 年，截止时间为 2023 年 4 月。术后患者自行或因胸闷、心悸心慌、心绞痛等症状入院复查，并接受冠状动脉造影。再狭窄判断标准为支架两端或支架内血管管腔狭窄度＞ 50%，根据是否发生再狭窄将患者分为未狭窄组（132 例）和再狭窄组（26 例）。冠脉血管狭窄程度在 30%～ 50%、＞ 50%～ 70%、70%以上分别为轻度狭窄、中度狭窄和重度狭窄，轻度狭窄诊断为动脉粥样硬化，中度狭窄诊断为冠心病。

1.3　观察指标　（1）一般资料：通过查阅患者病历收集，包括性别，年龄，病程，冠脉狭窄程度，体质量指数（body mass index，BMI），冠脉病变血管（左前降支/冠脉左回旋支/右冠脉），高血压，高血脂，病变直径、长度，饮酒史，吸烟史和阿司匹林、氯吡格雷、阿托伐他汀钙片停用时间等。（2）血清 eNOS 和 NO 水平检测：采集患者冠脉介入术 24 h 后静脉血于抗凝管中，收集上层血清，采用酶联免疫吸附法检测血清 eNOS 表达水平。选取 26 例未狭窄组和 26 例狭窄组患者冠脉介入术 24 h 后外周血样本，裂解红细胞后，收集外周血细胞。外周血细胞 eNOS 蛋白表达水平采用 Western blot 进行检测，实验中使用的 Rabbit polyclonal anti-eNOS 购于 Proteintech（中国武汉），并采用 qPCR 检测外周血细胞 eNOS mRNA 表达水平。血清 NO 采用亚硝酸盐比色法进行检测，严格参照试剂盒操作说明进行实验，试剂盒购于上海碧云天生物技术股份有限公司。实验中使用的引物序列 eNOS-forward：5’-TGGGGCTGGGGCTGG-3’ 和 reverse：5’-GGCGCAGCAGGATGG-3’；GAPDH-forward：5’-CATGGTTTACATGT-3’ 和 reverse：5’-AGCCAAAAGGGTCATC-3’。（3）炎症因子检测：采用酶联免疫吸附法检测患者冠脉介入术 24 h 后静脉血血清白细胞介素-6（interleukin-6，IL-6）、血清肿瘤坏死因子-α（tumor necrosis factor α，TNF-α）和 IL-1β（interleukin-1β，IL-1β）的表达水平，试剂盒购于武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司。

1.4　统计方法　采用 Excel 和 Prism 9.0 软件进行数据分析，计量资料以均数±标准差表示，采用 t 检验；计数资料以百分率表示，采用 χ^2 检验。采用 R 语言中 cor 函数进行相关性分析。预测价值分析采用受试者工作特征（receiver operator characteristic curve，ROC）曲线，曲线下面积（area under curve，AUC）比较采用 Z 检验。影响因素分析采用 Logistic 回归分析。采用 Image J 22.0 软件对 western blot 结果进行定量。P ＜ 0.05 表示差异有统计学意义。

2　结果

2.1　两组一般资料比较　随访期间，术后再狭窄率为 16.46%。再狭窄组责任冠脉狭窄程度大于未狭窄组，高血压患病比例高于未狭窄组，阿司匹林、氯吡格雷、阿托伐他汀钙片停用时间长于未狭窄组（均 P ＜ 0.05）；其他指标差异均无统计学意义（均 P ＞ 0.05），见表 1。

2.2　两组血清炎症因子表达水平比较　再狭窄组血清 IL-1β、TNF-α、IL-6 表达水平均高于未狭窄组（均 P ＜ 0.05），见表 2。

2.3　两组血清 eNOS、NO 表达水平比较　再狭窄组血清 eNOS、NO 水平均低于未狭窄组（均 P ＜ 0.05），见表 3。

2.4　两组外周血细胞 eNOS 蛋白和 mRNA 表达水平比较　再狭窄组外周血细胞 eNOS mRNA 和蛋白表达水平均低于未狭窄组（均 P ＜ 0.05），见图 1。

2.5　血清 eNOS、NO 水平与炎症因子和冠脉狭窄程度的相关性　患者血清 eNOS、NO 水平与冠脉狭窄程度和血清 TNF-α表达水平呈负相关（r=－ 0.861、－ 0.789、－ 0.901、－ 0.824，均 P ＜ 0.05），与血清 IL-6 和 IL-1β水平无显著相关性（均 P ＞ 0.05），血清 eNOS 与 NO 水平呈正相关（r=0.806，P ＜ 0.05）。

2.6　血清 eNOS、NO 表达水平对再狭窄的预测价值　eNOS、NO 及二者联合预测介入术后再狭窄的 AUC 分别为 0.822（95%CI：0.705 ～ 0.938）、0.776（95%CI：0.639 ～ 0.913）、0.941（95%CI：0.901 ～ 0.982），NO 的 AUC 小于二者联合（Z=2.317，P ＜ 0.05），特异度分别为 80.00%、70.05%、95.31%，敏感度分别为 77.23%、86.23%、84.43%，eNOS、NO 的预测截断值分别为 17.56 pg/ml、46.63 μmol/L，见图 2。

2.7　影响冠脉介入术后再狭窄的 Logistic 分析　将再狭窄作为因变量，以 eNOS、NO、IL-1β、TNF-α、IL-6、高血压、停用阿司匹林、氯吡格雷、阿托伐他汀钙片时间和冠脉狭窄程度为自变量进行多因素 Logistic 回归分析，结果显示，停用阿司匹林时间、停用阿托伐他汀钙片时间、停用氯吡格雷时间、高血压和血

表 1　两组一般资料比较

指标	未狭窄组(n=132)	再狭窄组(n=26)	$t(\chi^2)$值	P值
年龄(岁)	51.1±10.2	52.9±10.2	0.811	＞0.05
男性[例(%)]	85(64.39)	17(65.38)	(0.009)	＞0.05
病程(年)	0.92±0.19	0.94±0.31	0.436	＞0.05
体质量指数(kg/m²)	26.10±3.19	25.98±3.37	0.174	＞0.05
饮酒史[例(%)]	27(20.45)	7(26.92)	(0.538)	＞0.05
吸烟史[例(%)]	64(48.48)	14(53.85)	(0.250)	＞0.05
高血压[例(%)]	25(18.94)	12(46.15)	(6.956)	＜0.05
高血脂[例(%)]	37(28.03)	11(42.31)	(2.093)	＞0.05
冠脉病变责任血管[例(%)]			(0.698)	＞0.05
左回旋支	53(41.15)	11(42.31)		
右冠脉	61(46.21)	13(50.00)		
左前降支	18(13.64)	2(7.69)		
责任血管病变长度(mm)	21.79±7.31	22.78±7.63	0.627	＞0.05
责任血管病变直径(mm)	3.21±0.38	3.19±0.41	0.242	＞0.05
停用阿司匹林时间(d)	21.78±8.32	66.51±9.31	24.656	＜0.05
停用氯吡格雷时间(d)	25.14±9.14	71.13±11.56	22.399	＜0.05
停用阿托伐他汀钙片时间(d)	26.67±8.51	69.27±10.68	22.327	＜0.05
责任血管狭窄程度(%)	82.23±10.07	86.61±11.58	1.977	＜0.05

表 2　两组血清炎症因子水平比较　ng/L

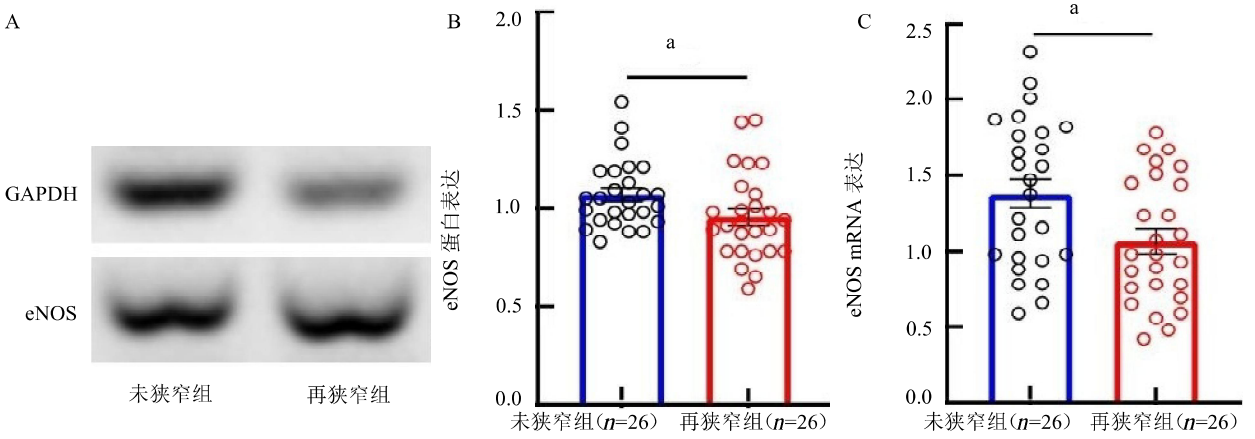
组别	例数	IL-1β	TNF-α	IL-6
未狭窄组	132	18.56±2.39	16.38±3.01	25.29±4.85
再狭窄组	26	20.78±3.89	19.36±3.89	31.01±6.91
t值		5.584	4.385	5.092
P值		＜0.05	＜0.05	＜0.05

注：IL 为白细胞介素，TNF-α为血清肿瘤坏死因子-α

表 3　两组血清 eNOS、NO 表达比较

组别	例数	eNOS(pg/ml)	NO(μmol/L)
未狭窄组	132	25.12±8.17	59.13±10.22
再狭窄组	26	15.39±5.01	41.56±9.18
t值		5.851	8.139
P值		＜0.05	＜0.05

注：eNOS 为内皮一氧化氮合酶，NO 为一氧化氮



注：A 为 eNOS 蛋白表达的 western blot 检测结果，B 为 eNOS 蛋白表达比较，C 为 eNOS mRNA 表达比较。与未狭窄组对比，aP＜0.05

图 1　两组患者外周血细胞 eNOS 蛋白和 mRNA 表达水平比较

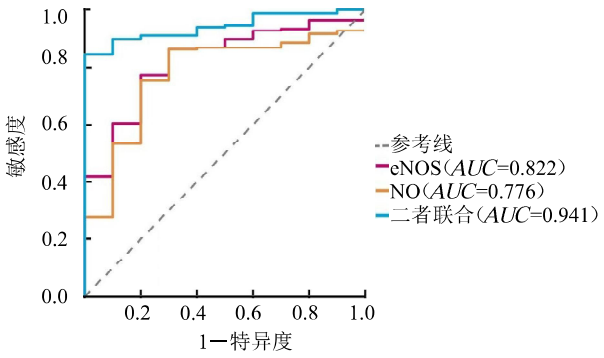


图 2　血清 eNOS、NO 预测介入术后再狭窄的 ROC 曲线

清 eNOS、NO 为冠脉介入术后再狭窄的独立风险因素(均P＜0.05)，见表 4。

3　讨论

冠脉介入治疗已成为急性冠脉综合征患者的常用治疗手段，故与冠心病介入治疗相关的临床研究较多[8]。长期以来，支架内再狭窄是冠心病介入术后的严重并发症之一和冠心病患者介入治疗后的重点

表 4　影响冠脉介入治疗术后再狭窄的 Logistic 回归分析

预测变量	β值	标准误	Wald χ^2 值	*OR* 值	95%*CI*	*P* 值
eNOS	－1.221	0.294	17.213	0.295	0.164 ～ 0.523	＜ 0.05
NO	－0.673	0.261	6.637	0.510	0.311 ～ 0.852	＜ 0.05
停用阿司匹林时间	0.984	0.432	5.183	2.675	1.143 ～ 6.291	＜ 0.05
停用氯吡格雷时间	0.763	0.325	5.516	2.145	1.137 ～ 4.062	＜ 0.05
停用阿托伐他汀钙片时间	1.216	0.544	4.993	3.374	1.163 ～ 9.733	＜ 0.05
高血压	0.722	0.216	11.149	2.059	1.351 ～ 3.138	＜ 0.05
TNF-α	0.755	0.452	2.788	2.128	0.873 ～ 5.146	＞ 0.05
IL-6	0.863	0.477	3.271	2.370	0.934 ～ 6.041	＞ 0.05
IL-1β	0.752	0.493	2.326	2.121	0.792 ～ 5.624	＞ 0.05

预防点。本研究对 158 例急性冠脉综合征患者入术再狭窄发生率为 16.46%，提示冠脉综合征患者冠脉介入术后有较高的再狭窄发生风险，故寻找介入治疗术后再狭窄发生的风险预警指标十分必要。另外，本研究结果显示，再狭窄组高血压患者占比多于未狭窄组，阿司匹林、氯吡格雷、阿托伐他汀钙片停用时间长于未狭窄组，这提示按医嘱定时服用药物、稳定控制血压对于冠脉综合征患者预防介入术后再狭窄至关重要。

NO 是内皮细胞产生的内源性的血管舒张因子，其在体内作用机制十分复杂，能够抑制白细胞黏附、血管内皮细胞增生和平滑肌迁移、血小板聚集 [9]。eNOS 是催化活性氧和 L-精氨酸产生 NO 所必需的，eNOS 所催化产生的 NO 是心肌局部组织中 NO 的主要来源，能够舒张血管，对心肌及血管内皮的保护作用十分明确[7]。eNOS 通过其内皮和心肌保护作用抑制心肌梗死的发生和发展过程，当 eNOS 表达严重不足时，机体内源性 NO 的生成急剧减少，患者发生心肌梗死的风险升高 [10]。eNOS 活性及产量下降影响内皮细胞 NO 的合成可能与患者冠状动脉痉挛的发生有关[11]。本研究结果发现再狭窄组血清 IL-6、TNF-α、IL-1β水平高于未狭窄组（均 $P < 0.05$），而 eNOS 和 NO 水平低于未狭窄组（均 $P < 0.05$）；患者血清 eNOS 与 NO 含量呈正相关，eNOS 和 NO 含量与血清 TNF-α水平、冠脉狭窄程度呈负相。这提示冠心病患者介入治疗术后再狭窄发生与血清 eNOS、NO 水平密切相关。血清 eNOS、NO 水平下调可能诱发内皮细胞释放炎症因子，进一步加剧患者的狭窄程度。多因素 Logistic 回归分析揭示 eNOS、NO 是再狭窄的独立风险因子（均 $P < 0.05$）。ROC 曲线表明 eNOS、NO 不仅影响血管再狭窄的病理发生，还可对介入术后再狭窄进行早期预警。当 eNOS、NO 小于二者预测截断值 17.56 pg/ml、46.63 μmol/L 时，提示血管再狭窄的发生风险升高。

利益冲突　所有作者声明无利益冲突

参　考　文　献

[1] TAO S, TANG X, YU L, et al. Prognosis of coronary heart disease after percutaneous coronary intervention: a bibliometric analysis over the period 2004-2022[J]. Eur J Med Res, 2023,28(1):311.

[2] YADAV H N, SHAH S. Effect of vitamin D in experimental pulmonary arterial hypertension in rats: Possible role of eNOS-mediated signalling pathways[J]. Eur Cardiol, 2023,18:e28.

[3] BENINCASA G, COSCIONI E, NAPOLI C. Cardiovascular risk factors and molecular routes underlying endothelial dysfunction: Novel opportunities for primary prevention[J]. Biochem Pharmacol, 2022, 202: 115108.

[4] 诸国华,华琦.内皮型一氧化氮合酶基因多态性与心脑血管疾病相关性的研究进展[J].中华老年心脑血管病杂志,2019,21(9):998-1001.

[5] 刘苏颖,李佳林,刘军,等.血清 VWF、AGT 表达与冠脉介入治疗术后再狭窄的相关性研究[J].武警后勤学院学报(医学版),2021,30(10):15-18,37.

[6] WU X L, ZHENG B, JIN L S, et al. Chinese medicine Tongxinluo reduces atherosclerotic lesion by attenuating oxidative stress and inflammation in microvascular endothelial cells[J] .Int J Clin Exp Pathol,2015,8(6):6323-6333.

[7] 李彤,赵明镜,韩小婉,等.豁痰解毒通络饮通过抑制 eNOS 解耦联途径减轻兔早期动脉粥样硬化[J].中国中药杂志,2018,43(21):4305-4310.

[8] 崔斌,丁小涵,赵刚,等.内皮型一氧化氮合酶基因转染促进内皮祖细胞移植对大鼠颈动脉新生内膜增生的抑制作用[J].中国介入心脏病学杂志,2014,22(10):637-641.

[9] 万宛若,黄丹,徐婉茹,等.中药成分改善动脉粥样硬化及其机制研究进展[J].中草药,2023,54(17):5748-5758.

[10] 张平,庞继恩,姜靖.全氟化碳对动脉粥样硬化大鼠内皮功能的影响[J].临床心血管病杂志,2016,32(3):291-294.

[11] 赵江涛,张金盈,张力,等.外周血内皮祖细胞数量及 eNOS 基因表达在动脉粥样硬化大鼠中的改变[J].临床心血管病杂志,2012,28(6):471-474.

收稿日期：2023-10-15

（本文编辑：孙海儿）