

空腹血糖与急性冠脉综合征合并 2 型糖尿病患者循环微粒浓度的相关性研究

马姗姗¹, 王旭兰², 于 婷², 王群让³

【摘要】 目的 分析空腹血糖与急性冠脉综合征 (ACS) 合并 2 型糖尿病患者循环微粒 (MPs) 浓度的相关性。**方法** 选取 2014 年 7—12 月陕西中医药大学附属医院心内科收治的 ACS 患者 77 例, 其中未合并 2 型糖尿病者 42 例 (A 组)、合并 2 型糖尿病者 35 例 (B 组); 另选取同期体检健康者 20 例作为对照组。比较 3 组受试者血脂指标、循环 MPs 浓度及内皮型一氧化氮 (eNOS) 蛋白相对表达量, 空腹血糖与 ACS 合并 2 型糖尿病患者循环 MPs 浓度的相关性分析采用 Pearson 相关性分析。**结果** 3 组受试者总胆固醇 (TC)、三酰甘油 (TG)、高密度脂蛋白 (HDL) 比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); A 组和 B 组患者低密度脂蛋白 (LDL) 和循环 MPs 浓度高于对照组, B 组患者 LDL 和循环 MPs 浓度高于 A 组 ($P < 0.05$)。Pearson 相关性分析结果显示, 空腹血糖与 ACS 合并 2 型糖尿病患者循环 MPs 浓度呈正相关 ($r = 0.59, P < 0.01$)。A 组和 B 组 eNOS 蛋白相对表达量低于对照组, B 组 eNOS 蛋白相对表达量低于 A 组 ($P < 0.05$)。**结论** 空腹血糖与 ACS 合并 2 型糖尿病患者循环 MPs 浓度有关, 空腹血糖可能通过增加循环 MPs 浓度而抑制抗动脉硬化作用。

【关键词】 急性冠脉综合征; 血糖; 循环微粒

【中图分类号】 R 542.2 **【文献标识码】** A DOI: 10.3969/j.issn.1008-5971.2017.10.005

马姗姗, 王旭兰, 于婷, 等. 空腹血糖与急性冠脉综合征合并 2 型糖尿病患者循环微粒浓度的相关性研究 [J]. 实用心脑血管病杂志, 2017, 25 (10): 16-19. [www.syxnf.net]

MA S S, WANG X L, YU T, et al. Correlation between fasting blood glucose and circulation microparticles concentration in acute coronary syndrome patients merged with type 2 diabetes mellitus [J]. Practical Journal of Cardiac Cerebral Pneumal and Vascular Disease, 2017, 25 (10): 16-19.

Correlation between Fasting Blood Glucose and Circulation Microparticles Concentration in Acute Coronary Syndrome Patients Merged with Type 2 Diabetes Mellitus MA Shan-shan¹, WANG Xu-lan², YU Ting², WANG Qun-rang³

1. Department of Rehabilitation Medicine, the First People's Hospital of Hebi, Hebi 458030, China

2. Medical School of Xianyang Vocational and Technical College, Xianyang 712000, China

3. Department of Cardiology, the Affiliated Hospital of Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xianyang 712000, China

Corresponding author: WANG Qun-rang, E-mail: yaohe1977@126.com

【Abstract】 Objective To analyze the correlation between fasting blood glucose and circulation microparticles (MPs) concentration in acute coronary syndrome (ACS) patients merged with type 2 diabetes mellitus. **Methods** From July to December in 2014, a total of 77 patients with ACS were selected in the Department of Cardiology, the Affiliated Hospital of Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine, thereinto 42 patients without type 2 diabetes mellitus were served as A group, other 35 cases with type 2 diabetes mellitus were served as B group, meanwhile 20 healthy people admitted to this hospital for physical examination were selected as control group. Blood lipids index, circulation MPs concentration and relative protein expression quantity of eNOS were compared among the three groups, and Pearson correlation analysis was used to analyze the correlation between fasting blood glucose and circulation MPs concentration in patients with ACS. **Results** No statistically

基金项目: 国家自然科学基金专项基金资助项目 (81341112); 咸阳职业技术学院院级科学技术研究资助项目 (2017KYC02)

1. 458030 河南省鹤壁市人民医院康复医学科

2. 712000 陕西省咸阳市, 咸阳职业技术学院医学院

3. 712000 陕西省咸阳市, 陕西中医药大学附属医院心内科

通信作者: 王群让, E-mail: yaohe1977@126.com

significant differences of TC, TG or HDL was found among the three groups ($P > 0.05$); LDL and circulation MPs concentration of A group and B group were statistically significantly higher than those of control group, meanwhile LDL and circulation MPs concentration of B group were statistically significantly higher than those of A group ($P < 0.05$). Pearson correlation analysis results showed that, fasting blood glucose was positively correlated with circulation MPs concentration in ACS patients merged with type 2 diabetes mellitus ($r = 0.59$, $P < 0.01$). Relative protein expression quantity of eNOS of A group and B group was statistically significantly lower than that of control group, respectively, meanwhile relative protein expression quantity of eNOS of B group was statistically significantly lower than that of A group ($P < 0.05$). **Conclusion** Fasting blood glucose is significantly correlated with circulation MPs concentration in ACS patients merged with type 2 diabetes mellitus, it may inhibit the anti-atherosclerosis action through increasing the circulation MPs concentration.

【Key words】 Acute coronary syndrome; Blood glucose; Circulation microparticles

临床研究显示,急性冠脉综合征(acute coronary syndrome, ACS)合并 2 型糖尿病患者的冠状动脉粥样硬化程度较严重,且糖尿病被认为是 ACS 的等危症^[1]。病理学研究显示,糖尿病与 ACS 均可通过激活凝血系统而导致内皮细胞功能异常^[2-4]。微粒(microparticles, MPs)是在各种炎症因子或有害因素刺激下由内皮细胞、血小板和中性粒细胞等血管源细胞激活而释放的纳米级颗粒。早期,循环 MPs 被认为是细胞垃圾,但大量研究显示,病理状况下循环 MPs 具有促进炎症、促进凝血、抑制离体细胞及心肌组织血管新生、损伤内皮细胞功能等作用^[5-7]。但血糖升高是否会影响循环 MPs 浓度尚未明确。本研究旨在分析空腹血糖与 ACS 合并 2 型糖尿病患者循环 MPs 浓度的影响,探讨空腹血糖在 ACS 合并 2 型糖尿病患者中的分子生物学机制。

1 对象与方法

1.1 排除标准 (1) 合并急慢性肾功能不全、高血压及自身免疫系统疾病者;(2) 近 3 个月内有创伤、急性感染和手术者。

1.2 一般资料 选取 2014 年 7—12 月就诊于陕西中医药大学附属医院心血管内科的 ACS 患者 77 例,均符合 2007 年美国心脏协会(AHA)、美国心脏病学会基金会(ACCF)、欧洲心脏学会(ESC)发布的 ACS 诊断标准,其中未合并 2 型糖尿病者 42 例作为 A 组,合并 2 型糖尿病者 35 例作为 B 组。A 组中男 24 例,女 18 例;平均年龄(48.6 ± 5.4)岁;疾病类型:不稳定型心绞痛(UAP) 26 例,ST 段抬高型心肌梗死(STEMI) 10 例,非 ST 段抬高型心肌梗死(NSTEMI) 6 例。B 组中男 20 例,女 15 例;平均年龄(45.8 ± 6.8)岁;疾病类型:UAP 19 例,STEMI 10 例,NSTEMI 6 例。另选取同期在陕西中医药大学附属医院进行体检的体检健康者 20 例作为对照组,其中男 10 例,女 10 例;平均年龄(40.3 ± 7.6)岁。3 组受试者年龄($F = 1.78$)和性别($\chi^2 = 1.06$)比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);A 组和 B 组患者疾病类型比较,差异无统计学意义($\chi^2 = 0.46$,

$P > 0.05$),具有可比性。本研究所有受试者签署知情同意书,且本研究经陕西中医药大学附属医院医学伦理委员会审核批准。

1.3 糖尿病诊断标准 有糖尿病病史,且入院时空腹血糖 ≥ 7.0 mmol/L。

1.4 检测方法

1.4.1 主要仪器与试剂 RPMI 1640 培养基(Biosera, 美国),高速离心机(Beckman coulter, 美国),采血管及离心管(BD, 美国),BCA 蛋白定量试剂盒(Thermo, 美国),脱脂奶粉(国奥生物科技有限公司,北京),RIPA 蛋白裂解液(Cell Signaling Technology, 美国),内皮型一氧化氮合酶(eNOS)抗体(Santa Cruz, 美国),GAPDH 抗体(Protein Tech Group, 美国),超声破碎仪(Cole-Parmer, 美国),X 射线胶片(柯达, 美国),电泳仪、转膜仪(Bio-RAD, 美国),人脐静脉内皮细胞(Science Cell, 美国),EPSON 扫描仪(Epson, 日本)。

1.4.2 血脂检测方法 采用全自动生化分析仪检测总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白(HDL)及低密度脂蛋白(LDL)。

1.4.3 循环 MPs 提取及检测方法 3 组受试者均于空腹状态下抽取肘静脉血 3 ml,低温运输至心血管病研究所,参考文献[8]中方法于 4 h 内提取 MPs: 首先离心血液(4°C , $4\ 000 \times g$, 10 min)取得血浆,然后将血浆移入离心管并离心(4°C , $11\ 000 \times g$, 2 min)获得乏血小板血浆,再次离心乏血小板血浆(4°C , $13\ 000 \times g$, 45 min)获得 MPs,最后采用 RPMI 1640 培养基重悬 MPs。将提取的 MPs 放置于 -80°C 冰箱中保存备用(可存放 3 周),采用 BCA 蛋白定量试剂盒检测循环 MPs 浓度。

1.4.4 eNOS 蛋白检测方法 分别采用含有一定浓度循环 MPs 的培养基(对照组为 1.5 mg/ml, A 组和 B 组为 2.5 mg/ml)孵育人脐静脉内皮细胞 12 h,孵育结束后弃细胞上清液,取冰冷 RIPA 蛋白裂解液 1 ml 裂解细胞

5 min, 将裂解的细胞悬液再次使用超声破碎仪进一步破碎 (20 Hz, 9 s) 后置于离心机离心 (4 ℃, 12 000 ×g, 10 min); 离心结束后取 10 μl 蛋白样液, 采用 BCA 蛋白定量试剂盒检测蛋白浓度, 进行免疫印迹试验 (主要步骤为蛋白电泳 - 蛋白转膜 - 5% 牛血清白蛋白封闭 - 一抗孵育 - 二抗孵育 - 蛋白显影和定影至 X 线胶片), 然后采用 EPSON 扫描仪扫描胶片, 最后采用 Image J 软件统计分析 3 组 eNOS 蛋白相对表达量。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 12.0 统计软件包进行数据处理, 计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 *q* 检验; 计数资料分析采用 χ^2 检验; 空腹血糖与 ACS 合并 2 型糖尿病患者循环 MPs 浓度的相关性分析采用 Pearson 相关性分析; 采用 Graphpad prism 5 软件作图。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组受试者血脂指标和循环 MPs 浓度比较 3 组受试者 TC、TG、HDL 比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 3 组受试者 LDL 和循环 MPs 浓度比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 其中 A 组和 B 组患者 LDL 和循环 MPs 浓度高于对照组, B 组患者 LDL 和循环 MPs 浓度高于 A 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$, 见表 1)。

表 1 3 组受试者血脂指标和循环 MPs 浓度比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of blood lipid index and circulation MPs concentration among the three groups

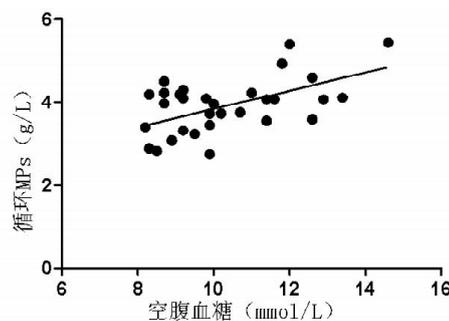
组别	例数	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	HDL (mmol/L)	LDL (mmol/L)	循环 MPs (g/L)
对照组	20	4.13 ± 1.23	1.27 ± 0.86	1.03 ± 0.49	2.16 ± 0.77	1.57 ± 0.53
A 组	42	6.08 ± 0.74	2.07 ± 0.51	1.19 ± 0.64	3.64 ± 0.82 ^a	2.52 ± 0.38 ^a
B 组	35	6.15 ± 0.96	2.11 ± 0.54	0.98 ± 0.46	4.25 ± 0.71 ^{ab}	4.83 ± 0.74 ^{ab}
F 值		1.13	1.11	1.14	3.98	5.12
P 值		0.15	0.13	0.13	0.021	<0.05

注: TC = 总胆固醇, TG = 三酰甘油, HDL = 高密度脂蛋白, LDL = 低密度脂蛋白, MPs = 微粒; 与对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与 A 组比较, ^b $P < 0.05$

2.2 相关性分析 Pearson 相关性分析结果显示, 空腹血糖与 ACS 合并 2 型糖尿病患者循环 MPs 浓度呈正相关 ($r = 0.59, P < 0.01$, 见图 1)。

2.3 3 组 eNOS 蛋白相对表达量比较 对照组 eNOS 蛋白相对表达量为 (0.72 ± 0.11), A 组为 (0.48 ± 0.09), B 组为 (0.11 ± 0.03); 3 组 eNOS 蛋白相对表达量比较, 差异有统计学意义 ($F = 414.38, P < 0.001$)。其中 A 组和 B 组 eNOS 蛋白相对表达量低于对

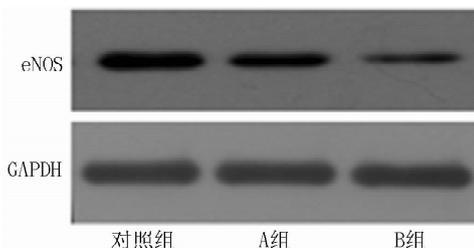
照组, B 组 eNOS 蛋白相对表达量低于 A 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$, 见图 2)。



注: MPs = 微粒

图 1 空腹血糖与 ACS 合并 2 型糖尿病患者循环 MPs 浓度关系的散点图

Figure 1 Scatter diagram for relationship between fasting blood glucose and circulation MPs concentration in ACS patients complicated with diabetes mellitus



注: eNOS = 内皮型一氧化氮合酶

图 2 3 组 eNOS 蛋白电泳图

Figure 2 Electrophoretogram of circulation MPs protein in 3 groups of subjects

3 讨论

ACS 的病理生理学改变包括内皮细胞凋亡、内皮细胞功能损伤和血小板激活、黏附、聚集并最终形成斑块及斑块破裂等。有研究显示, 与单纯重度冠状动脉狭窄患者相比, 合并 2 型糖尿病的冠状动脉重度狭窄病变患者心血管事件发生率明显增加^[9], 其部分机制如下: (1) 高血糖可以加重机体的氧化应激反应, 进一步激活血小板, 加重机体血栓负荷, 同时还可导致内皮细胞凋亡及功能障碍, 内皮细胞凋亡和血小板激活最终导致冠状动脉缺血进一步加剧^[10]; (2) 多数糖尿病患者存在胰岛素抵抗, 而胰岛素抵抗可上调 LDL 表达及下调 HDL 表达, 高表达的 LDL 通过导致内皮细胞凋亡和增加脂质沉积而加重冠状动脉狭窄程度及心肌缺血^[11]; (3) 胰岛素抵抗还可通过影响纤溶系统、血压、炎症、钙离子通道、茶酚胺释放等而影响冠状动脉血流供需平衡^[12]。

循环 MPs 目前被认为是机体受到有害刺激后由血管

源细胞释放的微小颗粒, 主要由内皮细胞、血小板及单核细胞凋亡或激活后释放。VAN IERSSEL 等^[13] 研究显示, 循环 MPs 可以导致内皮细胞功能紊乱、加重炎症反应、促进血液凝固等, 且循环 MPs 可反映内皮细胞功能损伤程度。本研究结果显示, A 组和 B 组患者循环 MPs 浓度高于对照组, B 组患者循环 MPs 浓度高于 A 组, 提示 ACS 合并 2 型糖尿病患者内皮细胞功能损伤较严重。内皮细胞功能损伤是动脉粥样硬化形成的始动环节, 在动脉粥样硬化发生发展过程中发挥着重要作用。一氧化氮 (NO) 是在 eNOS 作用下由内皮细胞分泌的气体信号分子, 具有强大的心血管保护和抗动脉粥样硬化作用。本研究结果显示, A 组和 B 组 eNOS 蛋白相对表达量低于对照组, B 组 eNOS 蛋白相对表达量低于 A 组, 提示 ACS 合并 2 型糖尿病患者心血管保护和抗动脉粥样硬化作用较弱。

综上所述, 空腹血糖与 ACS 合并 2 型糖尿病患者循环 MPs 浓度有关, 空腹血糖可能通过增加循环 MPs 浓度而抑制抗动脉硬化作用。但本研究样本量较小, 结果有待较大样本量研究进一步验证。

作者贡献: 马姗姗、王旭兰进行文章的构思与设计, 研究的实施与可行性分析; 王旭兰、于婷进行数据收集、整理、分析; 马姗姗进行结果分析与解释; 王旭兰撰写论文; 马姗姗、王群让负责文章的质量控制及审校; 王群让对文章整体负责, 监督管理。

本文无利益冲突。

参考文献

- [1] ZANIGNI S, CALANDRA - BUONAURA G, GIANNINI G, et al. The association between restless legs syndrome, cardiovascular and metabolic diseases: hypotheses and evidence from the literature [J]. *Arch Ital Biol*, 2015, 153 (2/3): 170 - 183. DOI: 10.12871/0003982920152342.
- [2] THUM T, FRACCAROLLO D, SCHULTHEISS M, et al. Endothelial nitric oxide synthase uncoupling impairs endothelial progenitor cell mobilization and function in diabetes [J]. *Diabetes*, 2007, 56 (3): 666 - 674.
- [3] Interleukin - 6 Receptor Mendelian Randomisation Analysis (IL6R MR) Consortium, SWERDLOW D I, HOLMES M V, et al. The interleukin - 6 receptor as a target for prevention of coronary heart disease: a mendelian randomisation analysis [J]. *Lancet*, 2012, 379 (9822): 1214 - 1224. DOI: 10.1016/S0140 - 6736 (12) 60110 - X.
- [4] FORD E S. Trends in the risk for coronary heart disease among adults with diagnosed diabetes in the U. S.: findings from the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999 - 2008 [J]. *Diabetes Care*, 2011, 34 (6): 1337 - 1343. DOI: 10.2337/dc10 - 2251.
- [5] KAM A, LI K M, RAZMOVSKI - NAUMOVSKI V, et al. Curcumin Reduces Tumour Necrosis Factor - Enhanced Annexin V - Positive Microparticle Release in Human Vascular Endothelial Cells [J]. *J Pharm Pharm Sci*, 2015, 18 (4): 424 - 433.
- [6] NOZAKI T, SUGIYAMA S, SUGAMURA K, et al. Prognostic value of endothelial microparticles in patients with heart failure [J]. *Eur J Heart Fail*, 2010, 12 (5): 1223 - 1228. DOI: 10.1093/eurjhf/hfq145.
- [7] OU Z J, CHANG F J, LUO D, et al. Endothelium - derived microparticles inhibit angiogenesis in the heart and enhance the inhibitory effects of hypercholesterolemia on angiogenesis [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2011, 300 (11): E661 - E668. DOI: 10.1152/ajpendo.00611.2010.
- [8] BEREZIN A E, KREMZER A A, MARTOVITSKAYA Y V, et al. The Association of Subclinical Hypothyroidism and Pattern of Circulating Endothelial - Derived Microparticles Among Chronic Heart Failure Patients [J]. *Res Cardiovasc Med*, 2015, 4 (4): e29094. DOI: 10.5812/cardiovascmed.29094.
- [9] ANDREINI D, PONTONE G, MUSHTAQ S, et al. A long - term prognostic value of coronary CT angiography in unsuspected coronary artery disease [J]. *JACC Cardiovasc Imaging*, 2012, 5 (7): 690 - 701. DOI: 10.1016/j.jcmg.2012.03.009.
- [10] 叶新华, 沈默宇, 杜云峰, 等. 冠心病合并 2 型糖尿病患者冠状动脉的 CT 特点 [J]. *中国老年学杂志*, 2012, 32 (24): 5376 - 5378. DOI: 10.3969/j.issn.1005 - 9202.2012.24.003.
- [11] 欧洲心脏病学会与欧洲糖尿病研究学会. 糖尿病、糖尿病前期与心血管疾病指南 [J]. *糖尿病临床*, 2013, 7 (11): 486 - 505, 517. DOI: 10.3969/j.issn.1672 - 7851.2013.11.002.
- [12] 张瑞荣, 樊凤飞, 平学军. 冠心病合并糖尿病患者的冠状动脉 CT 血管成像特征 [J]. *宁夏医科大学学报*, 2014, 36 (3): 273 - 276, 后插 2.
- [13] VAN IERSSEL S H, HOYMANS V Y, VAN CRAENENBROECK E M, et al. Endothelial microparticles for the assessment of endothelial function: an in vitro and in vivo study on possible interference of plasma lipids [J]. *PLoS One*, 2012, 7 (2): e31496.

(收稿日期: 2017 - 07 - 12; 修回日期: 2017 - 10 - 19)

(本文编辑: 谢武英)