

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.20.021

miR-21、动脉波速指标及动脉压差力容积指标评估 冠状动脉粥样硬化的有效性研究

余朝萍, 刘天虎[△], 李 刚, 蓝亚平, 黄 璞, 王晓梅, 张 波
四川省成都市郫都区人民医院心血管内科, 四川成都 611730

摘 要:目的 探讨 miR-21、动脉波速指标(AVI)及动脉压差力容积指标(API)评估冠状动脉(冠脉)粥样硬化的有效性。方法 随机选取 110 例冠心病患者和 90 例健康体检者,采用实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)测定血浆 miR-21 水平,使用动脉脉搏波速检测仪测定 AVI 和 API,同时收集受试者年龄、血压、血糖、血脂等临床资料以及冠心病患者的冠脉钙化评分,并运用 Pearson 相关进行相关性分析。结果 冠心病患者的血浆 miR-21、AVI、API、三酰甘油、总胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇、同型半胱氨酸、超敏 C 反应蛋白、舒张压、收缩压、脉压差均显著高于健康体检者($P < 0.05$),两者的年龄、体质量、身高、丙氨酸氨基转移酶、天门冬氨酸氨基转移酶、肌酐、空腹血糖、心率差异均无统计学意义($P > 0.05$)。冠心病患者的 AVI、API 与年龄、三酰甘油、总胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇、同型半胱氨酸、超敏 C 反应蛋白、收缩压、脉压差、冠脉钙化评分均呈显著正相关($P < 0.05$),与丙氨酸氨基转移酶、天门冬氨酸氨基转移酶、肌酐、空腹血糖、舒张压均无相关性($P > 0.05$);CAD 患者 miR-21 水平与 AVI、API 呈显著正相关($P < 0.05$)。健康体检者的 AVI、API 与年龄呈正相关($P < 0.05$),与其余各指标均无相关性($P > 0.05$)。结论 miR-21、AVI、API 均与冠脉粥样硬化发生、发展密切相关,可作为冠脉硬化的有效评估指标。

关键词:冠状动脉粥样硬化; 冠心病; miR-21; 动脉波速指标; 动脉压差力容积指标

中图分类号:R540.4

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2020)20-2985-04

Study on effectiveness of miR-21, arterial pulse velocity index and arterial pressure differential force volume index in evaluating coronary atherosclerosis

YU Chaoping, LIU Tianhu[△], LI Gang, LAN Yaping, HUANG Ying, WANG Xiaomei, ZHANG Bo
Department of Cardiology, Pidu District People's Hospital, Chengdu, Sichuan 611730, China

Abstract: Objective To investigate the effectiveness of miR-21, arterial pulse velocity index (AVI) and arterial pressure differential force volume index (API) in the evaluation of coronary atherosclerosis. **Methods** A total of 110 patients with coronary heart disease and 90 subjects undergoing the healthy physical examination were randomly selected. The real-time fluorescent quantitative reverse transcription-PCR (qRT-PCR) was adopted to measure the expression level of plasma miR-21. AVI and API were measured by the arterial pulse wave velocity detector, and the clinical data such as age, blood pressure, blood glucose and blood lipids, as well as coronary calcification scores in the patients with coronary heart disease were collected, and the Pearson method was used to conduct the correlation analysis. **Results** The levels of plasma miR-21, AVI, API, triacylglycerol, total cholesterol, low-density lipoprotein cholesterol, homocysteine, high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP), diastolic blood pressure, systolic blood pressure, and pulse pressure difference in the patients with coronary heart disease were significantly higher than the subjects undergoing physical examination ($P < 0.05$), there were no statistically significant differences in age, body mass, height, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, creatinine, fasting blood glucose, and heart rate between the two groups ($P > 0.05$). AVI and API in the patients with coronary heart disease had significantly positive correlation with the age, triacylglycerol, total cholesterol, low-density lipoprotein cholesterol, homocysteine, hs-CRP, systolic blood pressure, pulse pressure difference, and coronary calcification score ($P < 0.05$), and no significant correlation with alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, creatinine, fasting blood glucose, and diastolic blood pressure ($P > 0.05$); the miR-21 level of coronary heart disease patients had significantly positive correlation with AVI and API. AVI and API in the subjects undergoing healthy physical examination showed positive correlation

with age ($P < 0.05$), and had no correlation with the other indicators ($P > 0.05$). **Conclusion** miR-21, AVI and API are closely correlated to the occurrence and development of coronary atherosclerosis and can serve as the effective evaluation indicators for coronary sclerosis evaluation.

Key words: coronary atherosclerosis; coronary heart disease; miR-21; arterial pulse velocity index; arterial pressure difference force volume index

动脉粥样硬化(AS)是造成心脑血管疾病的主要诱因之一,而冠状动脉(简称冠脉)粥样硬化(CAS)是AS全身性疾病所表现的局部疾病状态。CAS不仅是冠心病(CAD)的病理基础,还可引起急性冠脉综合征、心力衰竭、心源性猝死等疾病,严重影响人们生命健康。CAS早期病理特征之一是冠脉钙化,临床症状主要表现为心慌气短、胸痛、胸闷等^[1]。国外研究发现,动脉波速指标(AVI)及动脉压差力容积指标(API)的测量方法无创、简单、快捷,可适用于动脉硬化程度的测定及弹性状况的评估^[2],且与传统测量指标踝肱脉搏波传导速度(baPWV)的检测结果一致,但国内相关研究鲜有报道。近年来,研究发现微小RNA(miRNA)与心血管疾病及多种炎症的发生、发展密切相关,且可作为疾病诊断的循环标志物。有研究认为 miR-21 在心血管疾病的进程中发挥着重要的作用,与 AS 密切相关^[3]。本研究拟选取 CAD 患者为研究对象,通过探讨 miR-21、AVI、API 水平与患者一般资料的相关性,研究 miR-21、AVI、API 联合评估 CAS 的有效性,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2017 年 9 月至 2018 年 5 月在本院就诊的经心脏冠脉造影确诊为 CAD 患者(CAD 组)110 例,其中男 58 例、女 52 例,平均年龄(54.8 ± 9.8)岁;选取同期本院健康体检者(对照组)90 例,其中男 47 例、女 43 例,平均年龄(53.6 ± 10.2)岁。排除标准:甲状腺功能亢进症、肝肾功能异常或肝肾衰竭、脑梗死、瓣膜性心脏病、恶性肿瘤、扩张型心肌病、糖尿病、血栓栓塞及其他炎性疾病等患者。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 抽取空腹状态下 CAD 组和对照组外周静脉血 2.5 mL 于抗凝管中,以 3 000 r/min 离心 15 min,分离血浆,保存至 -80°C 冰箱备用。

1.2.2 实验室指标检测 除身高、年龄、体质量外,需常规检测 CAD 组和对照组生化指标丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、肌酐(Cr)、空腹血糖(FPG)、三酰甘油(TG)、总胆固醇(CHOL)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、同型半胱氨酸(Hcy)、超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)等生化指标水平,以及测量指标心率、舒张压、收缩压、脉压差水平,另外采集 CAD 组冠脉钙化积分(CACS)。

1.2.3 实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR) 采

用茎环法设计并合成引物(广州华大基因)。miR-21(miRBase NO: MIMAT0000076)的上游引物:5'-CGGGGAGCTTATCAGACTG-3';通用下游引物:5'-CAGTGCGTGTCTGTTGAGT-3';U6 内参基因上游引物:5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3';下游引物:5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'。根据使用说明书,采用 Trizol 试剂(Invitrogen, 15596026)从血浆标本中提取总 RNA,测定 RNA 纯度及水平后,使用反转录试剂盒(Takara, RR047a)将 RNA 反转录为 cDNA,使用 SYBR Green qPCR Mix(Monad, MQ10301)进行 qRT-PCR 分析,仪器为 Ariamx Real-Time PCR(Agilent Technologies)。反应条件:95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s;95 $^{\circ}\text{C}$ 5 s,60 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,40 个循环。试验步骤重复 3 次,结果取平均值,按照 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法分析 miR-21 的相对表达水平。

1.2.4 AVI 和 API 测定 使用动脉脉搏波速检测仪(信泰光学, AVE-1500 型)对 CAD 组和对照组进行 AVI 和 API 测量。受检者平静状态下,坐立位,袖带系于左上臂,气囊标志处需对准肱动脉,袖带下缘距肘窝横纹 2~3 cm。两次测量间隔 3 min,结果取平均值。

1.3 统计学处理 采用 SPSS22.0 统计软件进行数据分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验;采用 Pearson 相关进行相关性分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CAD 患者及健康体检者的一般资料比较 两组的年龄、体质量、身高、ALT、AST、Cr、FPG、心率比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),CAD 患者的 TG、CHOL、LDL-C、Hcy、hs-CRP、舒张压、收缩压、脉压差均显著高于健康体检者($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 CAD 患者和健康体检者 AVI、API 与各临床指标的相关性分析 CAD 患者的 AVI 和 API 显著高于健康体检者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。采用 Pearson 相关分析健康体检者和 CAD 患者 AVI、API 与各临床指标的相关性,结果表明,健康体检者的 AVI、API 与 ALT、AST、Cr、FPG、TG、CHOL、LDL-C、Hcy、hs-CRP、舒张压、收缩压、脉压差均无相关性($P > 0.05$),与年龄呈正相关($P < 0.05$);CAD 患者的 AVI、API 与 ALT、AST、Cr、FPG、舒张压均无相关性($P > 0.05$),与年龄、TG、CHOL、LDL-C、Hcy、

hs-CRP、收缩压、脉压差、CACS 均呈正相关 ($P<0.05$)。见表 2~3。

表 1 两组一般资料比较($\bar{x}\pm s$)		
指标	对照组($n=90$)	CAD 组($n=110$)
年龄(岁)	53.60±10.20	54.20±9.80
体质量(kg)	67.24±9.37	66.83±7.95
身高(cm)	164.91±6.17	163.43±8.33
ALT(IU/L)	19.61±4.35	22.84±5.26
AST(IU/L)	20.57±5.07	23.27±5.19
Cr(μmol/L)	78.97±14.48	83.21±15.36
FPG(mmol/L)	4.35±0.38	4.98±0.49
TG(mmol/L)	1.22±0.29	1.86±0.42*
CHOL(mmol/L)	4.18±0.53	4.79±0.87*
LDL-C(mmol/L)	1.98±0.47	2.78±0.56*
Hcy(μmol/L)	15.37±3.04	23.68±4.13*
hs-CRP(mg/L)	2.07±0.41	4.38±0.57*
心率(次/分)	72.46±6.26	78.52±7.18
舒张压(mm Hg)	85.15±7.83	94.56±9.93*
收缩压(mm Hg)	126.28±12.67	145.15±14.32*
脉压差(mm Hg)	41.13±3.55	50.59±6.08*
CACS	—	267.49±53.47

注:与对照组比较,* $P<0.05$;—表示无数据。

表 2 两组的 AVI、API 测量结果($\bar{x}\pm s$)			
组别	<i>n</i>	AVI	API
对照组	90	18.67±3.21	21.98±4.37
CAD 组	110	27.78±5.26*	34.16±8.33*

注:与对照组比较,* $P<0.05$ 。

表 3 对照组和 CAD 组的 AVI、API 与各指标的相关性分析结果				
项目	AVI		API	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
对照组				
年龄	0.712	<0.01	0.315	<0.01
ALT	0.076	>0.05	0.075	>0.05
AST	0.081	>0.05	0.073	>0.05
Cr	0.075	>0.05	0.071	>0.05
FPG	0.079	>0.05	0.074	>0.05
TG	0.081	>0.05	0.083	>0.05
CHOL	0.098	>0.05	0.087	>0.05
LDL-C	0.089	>0.05	0.082	>0.05
Hcy	0.084	>0.05	0.091	>0.05
hs-CRP	0.094	>0.05	0.087	>0.05
舒张压	0.077	>0.05	0.073	>0.05
收缩压	0.091	>0.05	0.089	>0.05
脉压差	0.083	>0.05	0.079	>0.05

续表 3 对照组和 CAD 组的 AVI、API 与各指标的相关性分析结果				
项目	AVI		API	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
CAD 组				
年龄	0.806	<0.01	0.427	<0.01
ALT	0.084	>0.05	0.086	>0.05
AST	0.079	>0.05	0.094	>0.05
Cr	0.081	>0.05	0.083	>0.05
FPG	0.092	>0.05	0.089	>0.05
TG	0.732	<0.01	0.729	<0.01
CHOL	0.741	<0.01	0.752	<0.01
LDL-C	0.788	<0.01	0.779	<0.01
Hcy	0.795	<0.01	0.793	<0.01
hs-CRP	0.789	<0.01	0.786	<0.01
舒张压	0.085	>0.05	0.084	>0.05
收缩压	0.768	<0.01	0.764	<0.01
脉压差	0.783	<0.01	0.781	<0.01
CACS	0.794	<0.01	0.787	<0.01

2.3 CAD 患者和健康体检者血浆 miR-21 水平与 AVI、API 的相关性分析 利用 qRT-PCR 法检测 CAD 患者和健康体检者血浆 miR-21 的相对表达水平,结果表明,CAD 患者的血浆 miR-21 水平(1.65 ± 0.37)显著高于健康体检者(0.95 ± 0.06),差异有统计学意义($P<0.05$)。采用 Pearson 相关分析健康体检者和 CAD 患者血浆 miR-21 水平与 AVI、API 的相关性,结果表明,健康体检者血浆 miR-21 水平与 AVI、API 无显著相关性($r=0.108、0.097,P>0.05$),CAD 患者血浆 miR-21 水平与 AVI、API 呈显著正相关($r=0.792、0.789,P<0.05$)。

3 讨 论

临床实践中,AS 的常规物理检测方法包括动脉造影和多普勒超声检查等,但以上方法专业性高,费用较昂贵,且需在特定环境下进行检测,不适用于人群普查及早期检测。主动脉搏搏波传导速度(AP-WV)是目前测量 AS 的指标,因其检测部位位于腹股沟区域,具有一定的局限性。baPWV 与 APWV 测定结果一致,检测部位为上臂和下肢,操作更为简便,故 baPWV 是目前临床应用较多且有效的动脉功能评估指标。

使用便携式动脉脉搏波速检测仪检测 AVI 和 API,可分别反映受检者中心动脉整体僵硬度以及肱动脉局部僵硬度。OKAMOTO 等^[4]研究发现,AVI 和 API 与年龄、收缩压、舒张压、FPG 独立相关。罗小蔓等^[5]应用 AVI 和 API 评估高血压患者动脉硬化的有效性,但仅证明 AVI 和 API 与 baPWV 评估结果相似,

且与年龄呈显著正相关,且未进行更深入的分析。

除年龄外,血压、血脂异常也已被证明是 CAS 发生、发展的独立危险因素,且随着年龄的增加,动脉弹性逐渐降低,也可在一定程度上影响人体的血压、血脂水平。血脂代谢异常可引起血浆游离脂肪水平上升,进而使 LDL-C 合成和释放增加,富含 TG 的脂蛋白颗粒侵入冠脉血管壁,造成冠脉内膜脂质堆积,易引发慢性炎症反应。Hcy 和 hs-CRP 水平升高可引起血管内皮功能损伤、氧化应激反应等,加速斑块的形成,导致 CAS 的发生。血压水平的升高可增加冠脉中层内膜的压力,易导致内皮细胞的功能受损,进而加快 CAS 进程。JAMEE 等^[6]的研究证实,CAD 的相关危险因素主要包括肥胖、高血压、吸烟、高胆固醇水平和高 TG 水平等。朱旭等^[7]对 102 例 CAD 患者进行生化指标检测发现,CAD 患者的血清 hs-CRP、TG、CHOL 及 LDL-C 水平均显著高于健康对照者。

本研究结果发现,CAD 患者和健康体检者的 AVI 和 API 均与年龄呈正相关,且 AVI 与年龄的相关性系数 r 高于 API,符合动脉硬化程度随年龄增长而升高的趋势,反映了 AVI 和 API 检测结果的可靠性。同时,本研究发现 CAD 患者的 AVI 和 API 显著高于健康体检者,与 TG、CHOL、LDL-C、Hcy、hs-CRP、收缩压、脉压差均呈显著正相关,这与疾病的发生、发展规律相一致,表明 AVI 和 API 对 CAD 的监测具有一定的临床价值。此外,本研究还发现 AVI、API 与 CACS 呈显著正相关,而 CACS 是反映冠脉硬化、斑块负荷、冠脉狭窄程度的常见临床指标,表明 AVI 和 API 也可反映 CAS 的病变程度,是一种科学、有效的动脉硬化评估指标。

外周血多种 miRNAs 测定可用于 CAD 的诊断和预后评估。CHEN 等^[8]研究证实,miR-17-5p 可作为冠脉疾病中 CAS 严重程度的循环生物标志物。RAITOHARJU 等^[9]发现,miR-21、miR-210、miR-34a 和 miR-146a/b 在 AS 患者体内均显著上调,参与了 AS 的发生、发展进程。目前研究发现,miR-21 广泛存在于多种心血管细胞中,可调控转化生长因子- β 及其受体^[10],也可促进血管平滑肌细胞中蛋白聚糖的分泌,促进血管内膜中脂蛋白的积聚,加快 AS 进程。本研究发现,CAD 患者的血浆 miR-21 水平显著高于健康体检者,与既往结果一致^[11],证实了 miR-21 与 CAD 的发生、发展密切相关。本研究发现,CAD 患者血浆 miR-21 水平与 AVI、API 呈显著正相关,表明 miR-21 与 CAS 病变程度密切相关,提示 miR-21 可作为 CAD 冠脉硬化程度的循环生物标志物。

综上所述,本研究通过检测 CAD 患者血浆 miR-21 水平以及 AVI 和 API,并与年龄、血压、血脂等临床资料进行相关性分析,发现 CAD 患者 AVI、API 与

年龄、TG、CHOL、LDL-C、Hcy、hs-CRP、收缩压、脉压差均有显著相关性,miR-21 水平与 AVI、API 呈正相关。这提示 miR-21、AVI 和 API 均与 CAS 的发生、发展密切相关,可作为评估冠脉硬化程度的有效指标,具有一定的临床应用价值。

参考文献

- [1] PARSONS C, AGASTHI P, MOOKADAM F, et al. Reversal of coronary atherosclerosis: role of life style and medical management[J]. Trends Cardiovasc Med, 2018, 28(8):524-531.
- [2] TAZAWA Y, MORI N, OGAWA Y, et al. Arterial stiffness measured with the cuff oscillometric method is predictive of exercise capacity in patients with cardiac diseases[J]. Tohoku J Exp Med, 2016, 239(2):127.
- [3] DARABI F, AGHAEI M, MOVAHEDIAN A, et al. Association of serum microRNA-21 levels with visfatin, inflammation, and acute coronary syndromes [J]. Heart Vessels, 2017, 32(5):549-557.
- [4] OKAMOTO M, NAKAMURA F, MUSHI T, et al. Association between novel arterial stiffness indices and risk factors of cardiovascular disease[J]. BMC Cardiovasc Disord, 2016, 16(1):211.
- [5] 罗小蔓,金玉华,方宁远,等. 动脉波速指标和动脉压力容积指标评估动脉硬化的有效性研究[J]. 老年医学与保健, 2017, 23(6):528-531.
- [6] JAMEE S A, ABED Y, DESORMAIS I, et al. Epidemiology of coronary artery disease and stroke and associated risk factors in gaza community -palestine[J]. PLoS One, 2019, 14(1):e211131.
- [7] 朱旭,郑利平. 冠心病患者血清超敏 C 反应蛋白、肌钙蛋白、血脂水平变化及临床意义[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(7):258-260.
- [8] CHEN J, XU L, HU Q, et al. MiR-17-5p as circulating biomarkers for the severity of coronary atherosclerosis in coronary artery disease[J]. Int J Cardiol, 2015, 197(1):123-124.
- [9] RAITOHARJU E, INEN L L, LEVULA M, et al. miR-21, miR-210, miR-34a, and miR-146a/b are up-regulated in human atherosclerotic plaques in the tampere vascular study[J]. Atherosclerosis, 2011, 219(1):211-217.
- [10] JAZBUTYTE V, THUM T. MicroRNA-21: from cancer to cardiovascular disease[J]. Current Drug Targets, 2010, 11(8):926-935.
- [11] LI S, FAN Q, HE S, et al. MicroRNA-21 negatively regulates treg cells through a tgf- β 1/smad-independent pathway in patients with coronary heart disease [J]. Cell Physiol Biochem, 2015, 37(3):866-878.