

• 临床研究 •

急性心肌梗死患者不同发病时期血清血管内皮生长因子的表达变化

丁大朋, 李士军[△]

(大连医科大学附属第一医院检验科, 辽宁大连 116011)

摘要: 目的 探讨急性心肌梗死患者在不同发病时期血清血管内皮生长因子(VEGF)的表达差异。方法 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 90 例不同发病时期的急性心肌梗死患者和 30 例健康者血清 VEGF 浓度, 并对检测结果进行比较。结果 急性心肌梗死患者发病 2~6 h 血清 VEGF 浓度(7.08 ± 9.21) pg/mL, 12~24 h 血清 VEGF 浓度(24.67 ± 17.19) pg/mL, 3~5 d 血清 VEGF 浓度(21.60 ± 16.67) pg/mL, 健康者血清 VEGF 浓度(5.58 ± 9.59) pg/mL, 急性心肌梗死患者发病 12~24 h 血清 VEGF 的浓度明显高于发病 2~6 h, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 急性心肌梗死患者血清血管内皮生长因子随心肌缺血严重程度增加而升高。

关键词: 血管内皮生长因子; 急性心肌梗死; 酶联免疫吸附测定

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.01.036

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)01-0083-02

急性心肌梗死是迄今为止导致人类死亡的最常见的疾病, 发病率和病死率均较高, 包括非 ST 段抬高型心肌梗死(NSTEMI)、ST 段抬高型心肌梗死(STEMI)及不稳定型心绞痛(UA), 导致不同程度的心肌缺血、缺氧, 促使心肌自身的侧枝循环逐渐建立。同时, 促使血管再生, 在一定程度上适应或抵御心肌局部缺血、缺氧。介入治疗[经皮腔内冠状动脉成形术(PTCA)]和冠状动脉旁路移植术(CABG)是现阶段治疗急性心肌梗死较为有效, 应用较为广泛的方法, 其原理在于通过解除冠状动脉的狭窄或梗阻状况来改善心肌缺血情况, 但仍需对急性心肌梗死进行早期诊断。因此, 发现有效心肌缺血损伤的指标具有重要的临床价值。血管内皮生长因子(VEGF)具有较好特异性, 可有效促进新生血管形成和促进血管侧枝循环^[1-2]。可见, VEGF 的表达水平与急性心肌梗死等缺血性疾病关系紧密。本文旨在通过测定急性心肌梗死患者在不同时期血清中 VEGF 的浓度, 探究其与急性心肌梗死发病过程的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 90 例患者来自 2014 年 9 月至 2015 年 1 月本院心内科诊断为急性心肌梗死的患者, 其中急性心肌梗死患者发病 2~6 h 30 例; 发病 12~24 h 30 例; 发病 3~5 d 30 例; 男 47 例, 女 43 例, 年龄 43~76 岁。30 例健康体检者标本作为对照组(男 16 例, 女 14 例), 年龄在 40~70 岁, 在性别和年龄构成上与急性心肌梗死患者各组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。所有患者均符合世界卫生组织冠心病(CHD)诊断标准, 并排除肝肾功能异常、糖尿病、恶性肿瘤、脑卒中等疾病。

1.2 仪器与试剂 高速离心机, 37 °C 电热恒温水槽, 酶标仪(450 nm), 微量加样器, 人 VEGF 酶联免疫吸附试验(ELISA)检测试剂盒

1.3 方法 采集静脉血液 5 mL, 3 000 r/min 离心 5 min, 分离血清, 于 -70 °C 冰箱保存待测。血清 VEGF 水平采用双抗体一步夹心法 ELISA 测定, 具体方法如下: 从室温(20~25 °C)平衡 20 min 后的 VEGF 检测试剂盒铝箔袋中取出所需板条(试验前将 VEGF 检测试剂盒置于 4 °C 冰箱保存)。同时, 将待测患者血清从 -70 °C 中取出室温(20~25 °C)融化。依次设置标准品孔($S_0 \sim S_5$)和样品孔, 标准品孔各加不同浓度的标准品 50 μL, $S_0 \sim S_5$ 浓度依次为 0、15、30、60、120、240 pg/

mL。样品孔先加待测样品 10 μL, 再加样品稀释液 40 μL, 空白孔不加。除空白孔外, 标准品孔和样品孔中每孔加入辣根过氧化物酶(HRP)标记的检测抗体 100 μL, 用封板膜封住反应孔, 37 °C 恒温水槽温浴 60 min。弃去各孔中的液体, 并将板条在吸水纸上拍干, 每孔加满洗涤液, 静置 1 min 后, 甩去孔中的洗涤液, 并将板条在吸水纸上拍干, 如此重复洗涤板条 5 次。洗涤 5 次后, 于每孔加入底物 A、B 各 50 μL, 37 °C 避光孵育 15 min。每孔加入终止液 50 μL, 15 min 内, 利用酶标仪在 450 nm 波长处测定各孔 OD 值。运用酶标仪绘制出标准品线性回归曲线, 分别以标准品浓度为横坐标, 对应 OD 值为纵坐标, 按曲线方程计算各样品浓度值, 由于试验时样品孔进行了 5 倍稀释, 所得结果需乘以 5 得出最终结果。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件对数据进行统计学处理, 计量资料用 *t* 检验进行统计, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结 果

90 例急性心肌梗死患者根据发病时间的不同将其分为 3 组: 急性心肌梗死发作 2~6 h 组; 急性心肌梗死发作 12~24 h 组; 急性心肌梗死发作 3~5 d 组, 健康者作为对照组, 每组各 30 例。急性心肌梗死发作 2~6 h 组与对照组比较, VEGF 浓度略有升高但差异无统计学意义($P > 0.05$)。急性心肌梗死发作 12~24 h 组与急性心肌梗死发作 2~6 h 组比较, VEGF 浓度明显升高且差异有统计学意义($P < 0.05$)。急性心肌梗死发作 3~5 d 组与急性心肌梗死发作 12~24 h 组比较, VEGF 浓度略有降低但差异无统计学意义($P > 0.05$), 结果见表 1。

表 1 急性心肌梗死发作不同时期及健康者血清 VEGF 浓度比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	VEGF 浓度(pg/mL)
急性心肌梗死发作 2~6 h 组	30	7.08 ± 9.21
急性心肌梗死发作 12~24 h 组	30	$24.67 \pm 17.19^*$
急性心肌梗死发作 3~5 d 组	30	21.60 ± 16.67
对照组	30	5.58 ± 9.59

*: $P < 0.05$, 与急性心肌梗死发作 2~6 h 组比较。

3 讨 论

急性心肌梗死主要由动脉粥样硬化、冠状动脉痉挛或血栓形成等原因造成,从而使心肌缺氧、缺血。近期文献报道,心肌缺氧缺血,侧枝循环建立,动脉硬化斑块形成,血管内皮损伤等都会导致 VEGF 升高。其中,缺氧是促进 VEGF 表达较为重要的因素^[3]。VEGF 的高表达具有增加血管通透性,促进内皮细胞再生,促进血管侧枝循环,加速损伤血管内皮化和诱导血管新生及改善心肌缺血情况等作用^[4-6]。此外,VEGF 还有促进动脉粥样斑块内血管新生的作用^[7-8]。由此可进一步推测,缺血、缺氧可使 VEGF 在心肌损伤缺血状态下具有高表达性^[9]。

本研究检测了 90 例急性心肌梗死患者在不同发病时期血清中 VEGF 的浓度及健康者血清中 VEGF 的浓度,结果显示在急性心肌梗死发病初期(2~6 h)血清中 VEGF 的浓度与健康者血清中 VEGF 的浓度比较略有升高,说明心肌损伤造成的缺血缺氧已经启动了 VEGF 的表达。随着病程的进展,当急性心肌梗死进一步加重缺氧的程度(12~24 h),血清中的 VEGF 的浓度达到峰值,明显高于发病初期(2~6 h)及健康者血清中 VEGF 的浓度,说明 VEGF 的浓度随病情的加重而升高,同时也进一步证明了 VEGF 的浓度与心肌缺血缺氧存在明显的正相关性。当急性心肌梗死病情缓解(3~5 d),血清中 VEGF 的浓度略有下降,但与急性发作期(12~24 h)比较,差异无统计学意义($P>0.05$),可能由于心肌缺血缺氧的状态缓解虽能减少 VEGF 的生成,但建立新生血管循环的需要或降解生成的 VEGF 都需要较长时间,所以血清中 VEGF 的下降速度较慢。急性心肌梗死发病初期(2~6 h)血清 VEGF 略有升高,但与健康者比较,差异无统计学意义($P>0.05$),可能由于在心肌梗死发病初期时机体还未发挥其保护作用,即刺激内皮细胞产生大量 VEGF,之后随着病变程度越来越严重,VEGF 产生增多,也就是在心肌梗死急性发作期(12~24 h) VEGF 水平升高。心肌梗死急性发作期患者冠状动脉病变程度更加严重,更为广泛,心肌缺血的情况也更为严重,从而刺激内皮细胞产生大量 VEGF,心肌缺血缺氧作为一种信号一方面激活 VEGF/VEGF 受体系统,特异性诱导内皮细胞分裂、增殖和迁移,从而促进血管的新生,增加缺血心肌的供血,拯救濒死的心肌,最终导致梗死范围缩小^[10-11]。而心肌梗死发病初期患者血清 VEGF 水平只有轻度升高,可能因为此类患者心肌缺血程度较轻,还不足以刺激内皮细胞产生大量 VEGF^[12]。

目前也有相关文献报道急性心肌梗死患者血清中 VEGF 水平明显高于健康对照组^[13-14],但尚未对不同的发病时期进行明确的研究,本研究详尽地研究了急性心肌梗死发病初期(2~6 h)、急性发作期(12~24 h)、缓解期(3~5 d)及健康者血清中 VEGF 的浓度。明确了随着急性心肌梗死病程的进展,患者血清中 VEGF 浓度随心肌缺氧程度的增加而快速升高,随心肌缺氧程度的缓解而缓慢下降这样一种变化特征。同时,也提示了心肌缺血缺氧可能是血清中 VEGF 高表达的一个重要因素。

在临床诊断中,超敏肌钙蛋白(hs-TnI)常被作为诊断急性心肌梗死等心肌缺血缺氧类疾病的较为敏感的指标,其血清浓度在发病 4~6 h 开始升高。而 VEGF 虽然目前仍停留在研究阶段,尚未应用于临床,但从本研究可得出血清 VEGF 在急性心肌梗死发病初期(2~6 h)即略有升高,12~24 h 达到峰值。根据这一特征在现阶段可将其作为常规指标的一项补充指标,

与 hs-TnI 一起联合诊断心肌缺血缺氧等疾病。

综上所述,明确急性心肌梗死不同时期患者血清中 VEGF 的浓度变化,有助于急性心肌梗死等缺血性疾病的诊断,并且在评估冠心病微循环功能状态、侧枝循环的建立、心肌缺血、缺氧等方面具有重要的临床意义。同时,VEGF 可能成为一种比较敏感的急性心肌梗死诊断指标,具有广阔的应用前景。

参考文献

- [1] 晋军,黄岚,祝善俊,等. VEGF 在大鼠心肌梗死急性期表达的意义及蜕皮甾酮的促侧枝循环作用[J]. 中国介入心脏病杂志, 2002, 10(2): 158-159.
- [2] 任明芬,郭志坤,王振英,等. 血管内皮细胞生长因子与冠状动脉狭窄及侧支循环的关系[J]. 中国介入心脏病杂志, 2007, 15(2): 259-261.
- [3] De-Bore RA,Pinto YM,Suurmeijer AJ, et al. Increased expression of cardiac angiotensin II type(AT(II)) receptors decreases myocardial microvessel density after experimental myocardial infarction[J]. Cardiovasc Res, 2003, 57(4): 434-436.
- [4] 陈南,华守明,陆士奇,等. 冠心病患者血清血管内皮生长因子缺氧诱导因子-1 α 水平的研究[J]. 中国急救医学, 2007, 27(8): 679-681.
- [5] Matsunaga T, Warltier DC, Weihrauch DW, et al. Expression of VEGF and angiogenesis-1 and-2 during ischemia-induced coronary angiogenesis[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2003, 285(3): 352-358.
- [6] Hristov M, Erl W, Weber PC. Endothelial progenitor cells: mobilization, differentiation, and homing[J]. Arterioocler Thromb Vasc Biol, 2003, 23(7): 1185-1186.
- [7] 张军平,许颖智,李明灯,等. 血管新生在实验性动脉粥样硬化斑块中的地位与评价[J]. 实验动物科学, 2009, 26(1): 21-25.
- [8] Ishida A, Ohya Y, Saduka H, et al. Autologous peripheral blood mononuclear cell implantation for patients with peripheral arterial disease improves limb ischaemia[J]. Cire J, 2005, 69(11): 1260-1265.
- [9] 李勇,杨关林,刘宁,等. 祛痰化瘀汤对心肌绞痛患者血管内皮生长因子及脑利钠肽的影响[J]. 中国实用医药, 2009, 4(1): 7-9.
- [10] 蒋恒波,贺正西,杨红霞,等. 冠心病患者血清血管内皮生长因子和内抑素水平变化的临床意义[J]. 中南医学科学杂志, 2011, 3(5): 531-533.
- [11] Egami K, Murohara T, Aoki M, et al. Ischemia-induced angiogenesis: role of inflammatory response mediated by P-selectin[J]. J Leukoc Biol, 2007, 79(5): 971-976.
- [12] 魏辉,曾秋棠. 血清血管内皮生长因子浓度在冠心病诊断和介入治疗中的临床意义[J]. 临床心血管病杂志, 2007, 23(8): 829-831.
- [13] Blann AD, Belgore AM, McCollum CN, et al. Vascular endothelial growth factor and its receptor, Flt-1, in the plasma of patients with coronary or peripheral atherosclerosis, or type II diabetes [J]. Clin Sci, 2002, 102(2): 187-194.
- [14] Liou JY, Kou GI, Sh Yu, et al. Pericardial Fluid and serum levels of Vascular endothelial growth factor and endostatin in patients with or without coronary heart disease[J]. J Foemus Med Assoc Cardiol, 2006, 98(9): 902-905.