

细胞毒素相关基因 A(+) 幽门螺杆菌根除对原发性高血压患者外周血循环内皮微粒及动脉弹性的影响

李劲草, 黄冰生, 林桂雄, 吴钰燕

(广州市番禺区何贤纪念医院心内科, 广东省广州市 511400)

[关键词] 高血压; 幽门螺杆菌; 内皮微粒; 动脉弹性; 内皮功能

[摘要] **目的** 探讨细胞毒素相关基因 A(+) 幽门螺杆菌根除对原发性高血压患者血管内皮功能及动脉弹性的影响。**方法** 选择细胞毒素相关基因 A(+) 幽门螺杆菌感染的原发性高血压患者 62 例为根除治疗组, 同期就诊的 62 例无幽门螺杆菌感染的原发性高血压患者为对照组。在常规降压治疗基础上, 根除治疗组给予根除幽门螺杆菌治疗 1 周, 对照组给予安慰剂治疗 1 周, 随访 6 个月。两组研究对象在研究前后均行血脂、外周血循环内皮微粒水平及动脉弹性检测。**结果** 与根除前比较, 根除治疗组根除后血浆胆固醇、外周血循环内皮微粒水平明显降低, 小动脉弹性指数(C₂)明显升高, 差异有显著性(P<0.05)。**结论** 对合并细胞毒素相关基因 A(+) 幽门螺杆菌感染的原发性高血压患者, 根除幽门螺杆菌可能改善患者血管内皮功能及动脉弹性。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Effect of Cytotoxin Associated Gene A(+) Helicobacter Pylori Eradication on Circulating Endothelial-Derived Microparticles and Arterial Elasticity in Patients with Essential Hypertension

LI Jing-Cao, HUANG Bing-Sheng, LIN Gui-Xiong, and WU Yu-Yan

(Department of Cardiology, Hexian Memorial Hospital, Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong 511400, China)

[KEY WORDS] Hypertension; Helicobacter Pylori; Endothelial-Derived Microparticles; Arterial Elasticity; Endothelial Function

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effect of cytotoxin associated gene A(+) Helicobacter pylori eradication on vascular endothelial function and arterial elasticity in patients with essential hypertension. **Methods** 62 essential hypertension patients infected with cytotoxin associated gene A(+) Helicobacter pylori (eradication therapy group) and 62 essential hypertension patients without infecting with Helicobacter pylori (control group) were recruited into the study. The patients in eradication therapy group were administered with eradication therapy for a week to Helicobacter pylori, however, the patients in control group were administered with placebo for a week on the basis of general treatment. The levels of plasma lipids, circulating endothelial-derived microparticles and arterial elasticity were performed at the beginning and the end of study in all subjects. The follow-up period was 6 months. **Results** In comparison with the levels at beginning, the levels of plasma total cholesterol and circulating endothelial-derived microparticles were significantly decreased and C₂ significantly increased in eradication therapy group at the end of study(P<0.05). **Conclusion** Helicobacter pylori eradication might improve the vascular endothelial function and arterial elasticity in essential hypertension patients infected with cytotoxin associated gene A(+) Helicobacter pylori.

近年来研究显示,幽门螺杆菌(Helicobacter pylori, Hp)感染与多种胃肠道外疾病的发病机制密切

相关,其中包括高血压^[1]。有研究显示,根除 Hp 能降低高血压病患者血压水平^[2],但目前根除 Hp 对

[收稿日期] 2012-02-16

[基金项目] 广州市番禺区科技局资助项目(2007-Z-79-1)

[作者简介] 李劲草,主治医师,研究方向为心血管疾病的发生机制及药物治疗,E-mail 为 hbs8411@163.com。黄冰生,博士研究生,副主任医师,研究方向为心血管疾病的发生机制及治疗,E-mail 为 hbs8311@163.com。林桂雄,副主任医师,研究方向为心血管疾病的发生机制及药物治疗。

血压影响的机制仍不清楚。近来,研究显示只有细胞毒素相关基因 A (cytotoxin associated gene A, CagA) (+) Hp 能增加心血管疾病的风险, Hp⁺ CagA⁻ 无此作用^[3]。原发性高血压 (essential hypertension, EH) 被认为是一种始发于内皮功能紊乱的炎症相关性疾病, 内皮功能异常能加速高血压的进程, 同时促使动脉弹性的降低及早期动脉粥样硬化的发生^[4]。研究显示, 外周血循环内皮微粒 (circulating endothelial-derived microparticles, cEMP) 是内皮细胞损伤或凋亡脱落的残粒, cEMP 水平的升高能见于包括冠状动脉疾病在内的多种病理状态, 能反映内皮功能受损及不良的临床预后^[5]。为此, 本研究拟通过 Hp⁺ CagA⁺ 根除前后对 EH 患者外周血 cEMP 及动脉弹性的影响, 来探讨 Hp⁺ CagA⁺ 感染对 EH 患者血管内皮功能及动脉弹性的影响。

1 对象与方法

1.1 研究对象

入选 2009 年 7 月至 2010 年 7 月在我院心血管内科门诊就诊的 EH 患者 62 例为根除治疗组, 患者¹³C-尿素呼气试验每分钟衰变数 ≥ 200 dpm, 抗 Cag 抗体水平 ≥ 8 kU/L, 即 Hp⁺ CagA⁺ 的 EH 患者, 其中男 42 例, 女 20 例, 年龄 38 ~ 79 (61.29 \pm 10.28) 岁, 有家族史 18 例, 吸烟 17 例, 近期无感染性疾病及慢性炎症性疾病, 患者拟入选前半年内未使用过抗生素。所有研究对象均被充分告知研究情况, 并均同意参加本研究。同期就诊的 62 例 Hp⁻ CagA⁻ EH 患者为对照组, 其中男 40 例, 女 22 例, 年龄 35 ~ 77 (60.78 \pm 9.36) 岁, 有家族史 20 例, 吸烟 15 例。所有研究对象均接受规范的降压等药物治疗, 均无冠心病、糖尿病、脑血管病、外周血管疾病、肝肾疾病、免疫系统疾病、肿瘤等疾病。两组年龄、性别、家族史、吸烟史及药物使用方面, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

1.2 幽门螺杆菌根除方法

在 Hp⁺ CagA⁺ 患者行根除 Hp 治疗时, 对照组给予安慰剂治疗。Hp 根除治疗采用三联疗法, 包括阿莫西林 (1 g, 2 次/天)、克拉霉素 (500 mg, 2 次/天) 及奥美拉唑 (20 mg, 2 次/天), 疗程 7 天, 共 1 个疗程。随访期 6 个月, 所有患者均接受详细的病史及体格检查。根除治疗后 3 月采用呼气试验再次评估 Hp 感染情况

1.3 实验室检测

所有患者在入院第二天凌晨取血, 血液离心后

置于 -80°C 保存, 至多保存 4 周。抗 CagA 抗体采用酶联免疫的方法检测, 试剂由 Dia. Pro 公司提供, 抗体 ≥ 8 kU/L 定义为 CagA 阳性。患者血浆高敏 C 反应蛋白 (hs-CRP)、尿酸、糖化血红蛋白 (HbA1c)、血纤维蛋白原 (fibrinogen, FIB) 和血脂水平采用生化自动分析仪 (HIIACHI, 7170A, Automatic Analyzer) 检测, 试剂由浙江东欧公司提供。

1.4 外周血循环内皮微粒的检测

取 50 μL cEMP 悬液, 加入特异性荧光抗体 (anti-CD31-PE, anti-CD42b-FITC) 或同等数量的同型对照抗体, 于暗处在室温下孵育 20 min 后上流式细胞仪 (美国 BECKMAN-COULTER 公司) 进行检测, 抗体均购自美国 PHARMINGEN 公司。将前向角及侧向角置于 Log 通道。样本检测前以直径为 1.0 μm 的标准微球使用前向角定门, 微球位于门的右上方, 故门内的微粒大小均 $< 1.0 \mu\text{m}$ 。门内收集到的微粒进一步在 525 nm 和 575 nm 的光电倍增管进行 FITC 和 PE 荧光强度的分析。内皮细胞微粒定义为 $< 1.0 \mu\text{m}$ 且表达内皮细胞特异性抗原。每支检测的流式管中已加入同等数量已知浓度的绝对计数微球, 这些微球大小约 10 μm , 从而在前向角与微粒的门相区别, 当收集 1000 个绝对计数微球后停止计数, 依据绝对计数微球的浓度计算得出微粒浓度。

1.5 动脉弹性功能的测定

受试者于检查前禁用酒精、咖啡和吸烟 12 h, 测定前停用血管活性药物 24 h, 包括钙拮抗剂、 β 受体阻滞剂、硝酸酯类和血管紧张素转化酶抑制剂。试验过程中室温保持在 22 ~ 25 $^{\circ}\text{C}$, 采用美国 HDI 公司生产的 CVProfilouDo-2020 型动脉弹性功能测定仪记录桡动脉脉搏波舒张压力曲线。受试者取仰卧位, 固定左前臂及腕部, 选用合适的袖套置于受试者左上臂测血压, 将带有支架的探头置于右侧桡动脉搏动最强处, 获取理想波形和最大的信号强度, 以每秒采集 200 个数据的速度 30 s 桡动脉搏动波形。根据修正的人体 Windkessel 循环模型以及舒张期压力和脉搏波形的理论公式 $P(t) = A_1 e^{-A_2 t} + A_3 e^{-A_4 t} \cos(A_5 + A_6)$ 分析大动脉弹性指数 (C_1) 和小动脉弹性指数 (C_2)。

1.6 统计学分析

资料采用 SPSS11.0 软件包进行统计学分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。计量资料组间比较采用独立样本 t 检验的方法, 治疗前后比较采用单样本 t 检验的方法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基线资料

根除治疗后 3 月采用呼气试验再次评估 Hp 感染情况,根除治疗组根除 Hp 成功 44 例,故以 44 例统计结果。对照组无患者感染 Hp,亦无新发 Hp 感染。研究开始时,两组间在血脂、尿酸、HbA1c、FIB 水平及体质指数(BMI)方面比较,差异无显著性($P > 0.05$;表 1)。

2.2 血清总胆固醇、外周血循环内皮微粒及动脉弹性变化

治疗前,与对照组比较,根除治疗组血清总胆固醇、cEMP 水平明显升高, C_2 明显降低,差异有显著性($P < 0.05$);根除治疗后,两组间血清总胆固醇水平及 C_2 差异无显著性($P > 0.05$);与治疗前比

较,治疗后根除治疗组血清总胆固醇、cEMP 水平明显降低, C_2 水平明显升高,差异有显著性($P < 0.05$;表 2)。

表 1. 两组间一般资料比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1. Comparison of the baseline characteristics between the two groups($\bar{x} \pm s$)

指 标	对照组 ($n=62$)	根除治疗组 ($n=44$)	P 值
甘油三酯(mmol/L)	1.69 ± 1.06	1.77 ± 0.93	0.501
高密度脂蛋白(mmol/L)	1.05 ± 0.34	0.99 ± 0.31	0.613
低密度脂蛋白(mmol/L)	2.47 ± 0.58	2.88 ± 0.67	0.008
尿酸(μ mol/L)	364.92 ± 126.96	347.73 ± 116.76	0.786
HbA1c	5.21% ± 0.81%	5.37% ± 0.72%	0.360
FIB(g/L)	3.05 ± 0.91	3.24 ± 1.10	0.675
BMI(kg/m ²)	22.23 ± 2.09	22.97 ± 2.16	0.558

表 2. 血清总胆固醇、cEMP 水平及 C_2 的变化($\bar{x} \pm s$)

Table 2. The change of total cholesterol, circulating endothelial-derived microparticles and C_2 in the two groups($\bar{x} \pm s$)

指 标	对照组($n=62$)		根除治疗组($n=44$)	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
总胆固醇(mmol/L)	4.26 ± 1.07	4.37 ± 1.08	4.76 ± 1.13 ^a	4.39 ± 1.01 ^e
cEMP(个/ μ L)	880.54 ± 98.87	895.73 ± 101.87	1573.21 ± 120.66 ^b	1125.27 ± 118.38 ^{bc}
C_1 (mL/mmHg × 10)	11.57 ± 3.88	11.25 ± 3.69	11.27 ± 3.77	11.38 ± 3.17
C_2 (mL/mmHg × 10)	5.41 ± 2.35	5.45 ± 2.36	4.48 ± 2.14 ^a	5.23 ± 2.28 ^e

a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与对照组同期比较; c 为 $P < 0.05$, 与本组治疗前比较。

3 讨论

大部分强毒性的 Hp 都含有 VacA 毒素,其能引起局部及全身性的严重反应,引起上皮细胞严重损伤,VacA 毒素主要的免疫蛋白是 CagA,目前将 CagA 血清学阳性来定义强毒力 Hp 的方法已得到广泛采用。研究显示只有 Hp⁺CagA⁻能增加心血管疾病的风险, Hp⁺CagA⁻无此作用^[3]。

目前发现,多种因素可引起 EMP 生成增加^[6,7]。肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、细菌细胞壁脂多糖及氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)均可刺激培养的人脐静脉内皮细胞增加 EMP 的释放^[8,9], cEMP 水平升高能反映内皮功能受损,内皮功能受损与升高的循环微粒相关^[10]。当受到促凋亡因子的刺激,内皮祖细胞将碎裂成微粒,来源于内皮祖细胞的微粒增加将引起内皮祖细胞水平的降低,并在经典心血管危险因素基础上进一步促进主动动脉硬化的进展^[11]。有研究显示,微粒的生成增加可能增加 db/

db 小鼠缺血性损伤^[12]。因此,稳定细胞膜降低 EMP 的释放被认为是血管疾病治疗的一个靶点^[13]。目前普遍认为,心血管疾病发生机制的起始及核心环节是血管内皮功能受损。随着血管内皮功能受损程度的加重,将出现动脉弹性的降低及动脉粥样硬化的发生、发展。 C_2 是反应小动脉弹性的良好指标。本研究显示,治疗前,与对照组比较,根除治疗组 cEMP 明显升高, C_2 明显降低,提示 Hp⁺CagA⁺可能降低 EH 患者内皮功能及动脉弹性;与根除 Hp⁺CagA⁺前比较,根除 Hp⁺CagA⁺后 cEMP 明显降低, C_2 明显升高,提示在 EH 患者,根除 Hp⁺CagA⁺可能改善患者血管内皮功能,改善患者动脉弹性,因此,可能减少心血管事件的发生率。研究显示, Hp⁺CagA⁺可能通过上调患者血清 hs-CRP 及 ox-LDL 水平来促进冠心病患者动脉粥样硬化的进展^[14],因此,对于 EH 患者, Hp⁺CagA⁺也可能通过上调患者体内炎症及氧化水平来影响患者血管内皮功能及动脉弹性。既往研究显示,幽门螺杆菌可

干扰患者的脂代谢^[15-17];本研究显示,与根除 Hp⁺ CagA⁺ 前比较,根除 Hp⁺ CagA⁺ 后胆固醇明显降低,因此在 EH 患者,根除 Hp⁺ CagA⁺ 后血管内皮功能及动脉弹性的改善,可能部分得益于根除 Hp⁺ CagA⁺ 后胆固醇的降低。

综上所述,对合并 Hp⁺ CagA⁺ 感染的 EH 患者,通过根除 Hp⁺ CagA⁺ 可能降低患者血浆胆固醇及外周血 cEMP 水平,改善患者血管内皮功能及动脉弹性。

[参考文献]

- [1] 费劲松,季鸿,王雅杰,等. 高血压合并幽门螺杆菌感染患者的动态血压变化分析[J]. 现代医药卫生, 2010, 26(20): 3 045-047.
- [2] Migneco A, Ojetti V, Specchia L. Eradication of Helicobacter pylori infection improves blood pressure values in patients affected by hypertension[J]. Helicobacter, 2003, 8 (6): 585-589.
- [3] Zhang S, Guo Y, Ma Y, et al. Cytotoxin-associated gene-A-seropositive virulent strains of Helicobacter pylori and atherosclerotic diseases: a systematic review [J]. Chin Med J, 2008, 121(10): 946-951.
- [4] 杨锦茹,魏炜. 高血压患者血管内皮舒张功能与动脉弹性的关系研究[J]. 临床超声医学杂志, 2007, 9(8): 474-476.
- [5] Lacroix R, Sabatier F, Mialhe A, et al. Activation of plasminogen into plasmin at the surface of endothelial microparticles: a mechanism that modulates angiogenic properties of endothelial progenitor cells in vitro[J]. Blood, 2007, 110 (7): 2 432-439.
- [6] Sapet C, Simoncini S, Loriod B, et al. Thrombin-induced endothelial microparticle generation: identification of a novel pathway involving ROCK-II activation by caspase-2 [J]. Blood, 2006, 108(6): 1 868-876.
- [7] Boulanger CM, Amabile N, Guerin AP, et al. In vivo shear stress determines circulating levels of endothelial microparticles in end-stage renal disease[J]. Hypertension, 2007, 49(4): 902-908.
- [8] Kagawa H, Komiyama Y, Nakamura S, et al. Expression

of functional tissue factor on small vesicles of lipopolysaccharide-stimulated human vascular endothelial cells [J]. Thromb Res, 1998, 91(6): 297-304.

- [9] Nomura S, Shouzu A, Omoto S, et al. Activated platelets and oxidized LDL induce endothelial membrane vesiculation: clinical significance of endothelial cell-derived microparticles in patients with type 2 diabetes [J]. Clin Appl Thromb Hemost, 2004, 10(3): 205-215.
- [10] Pirro M, Schillaci G, Bagaglia F, et al. Microparticles derived from endothelial progenitor cells in patients at different cardiovascular risk [J]. Atherosclerosis, 2008, 197 (2): 757-67.
- [11] Chen J, Chen S, Chen Y, et al. Circulating endothelial progenitor cells and cellular membrane microparticles in db/db diabetic mouse: possible implications in cerebral ischemic damage [J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2011, 301(1): E62-E71.
- [12] Kissel CK, Lehmann R, Assmus B, et al. Selective functional exhaustion of hematopoietic progenitor cells in the bone marrow of patients with postinfarction heart failure [J]. J Am Coll Cardiol, 2007, 49(24): 2 341-349.
- [13] Inzhutova AI, Larionov AA, Petrova MM, et al. Stabilization of cellular membranes as a target of vascular therapy [J]. Kardiologiia, 2011, 51(4): 52-55.
- [14] Huang B, Chen Y, Xie Q, et al. CagA-positive Helicobacter pylori strains enhanced coronary atherosclerosis by increasing serum oxLDL and HsCRP in patients with coronary heart disease [J]. Dig Dis Sci, 2011, 56 (1): 109-114.
- [15] 李玉明,余联芳,郭宏,等. 根除幽门螺杆菌后单纯收缩期高血压患者血浆半胱氨酸及血脂水平的变化 [J]. 中华心血管病杂志, 2000, 28(3): 173-176.
- [16] 黄冰生,程颖,解强,等. 幽门螺杆菌感染对冠心病患者血脂和血浆高敏 C 反应蛋白的影响 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2008, 16(5): 389-391.
- [17] Oshima T, Ozono R, Yano Y, et al. Association of Helicobacter pylori infection with systemic inflammation and endothelial dysfunction in healthy male subjects [J]. J Am Coll Cardiol, 2005, 45(8): 1 219-222.

(此文编辑 许雪梅)