

急性缺血心肌炎症与再灌注

王 稳¹ 苟志平^{2△}

(1 石河子大学医学院 新疆 石河子 832000 2 克拉玛依市中心医院心内科 新疆 克拉玛依 834000)

摘要 近 20 年来,随着经皮冠状动脉介入(percutaneous coronary intervention,PCI)治疗的发展,相关的研究日益增多,许多研究显示炎症反应在行 PCI 治疗的患者的预后中发挥着很大的作用。PCI 术后患者心肌再灌注的疗效日益引起人们的关注,尤其是再灌注无复流的危害和重要性,如何控制炎症因子(如 hs-CRP,IL-6,TNF- α 等)的水平,以有益于行 PCI 术的患者,需要更多一些前瞻性研究去观察。

关键词 炎症 冠心病 再灌注 急性冠脉综合征 不稳定斑块

中图分类号 R541.4 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273(2012)19-3781-03

Inflammation of Acute Ischemic Cardiac Muscle and Reperfusion

WANG Wen¹, GOU Zhi-ping^{2△}

(1 Medical College of Shihezi University, Shihezi Xinjiang 832000, China;

2 Department of Cardiology, Central Hospital of Karamay, Karamay Xinjiang 834000, China)

ABSTRACT: In recent 20 years, with the development of percutaneous coronary intervention treatment, the researches related to PCI are increasing. Many studies have shown that inflammation plays an important role in the prognosis of the patients who accepted the PCI treatment. The efficacy of myocardial reperfusion in these patients has attracted much attention, especially the damage and importance of the no-reflow reperfusion. How to control the levels of inflammatory factors (such as hs-CRP, IL-6, TNF- α , etc), to benefits patients undergoing PCI treatment, needs more prospective studies to observe.

Key words: Inflammation; Coronary heart disease; Reperfusion; Acute coronary syndrome; Unstable plaque

Chinese Library Classification(CLC): R541.4 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2012)19-3781-03

引言

炎症在冠心病的发生、发展过程中发挥着十分重要的作用,是使粥样斑块趋于不稳定的主要因素,在 PCI 术后并发症及再狭窄的发生过程中也起着非常重要的作用。目前,PCI 是解除冠状动脉狭窄,恢复冠脉血流和心肌再灌注的主要治疗手段之一。近年来炎症反应在冠心病的发生、发展以及预后预测方面的作用成为热点,但是它在 PCI 术后不良心血管事件发生中的作用以及 hs-CRP 和白细胞等炎症反应标记物对术后近、远期并发症的预测价值尚存在争议。本文旨在进一步探讨冠心病行 PCI 患者炎症反应与术后心肌再灌注之间的关系。

1 急性心肌缺血

急性心肌缺血是临床最常见的严重威胁生命的心血管急症之一,主要见于心绞痛和心肌梗死^[1]。它是急性冠脉综合征(acute coronary syndrome,ACS)的一组临床表现,主要是在冠脉病变的基础上发生冠脉供血急剧减少或中断,从而使相应的供血区的心肌严重的急性缺血、缺氧,导致心肌组织发生营养障碍和萎缩。短暂而严重的心肌缺血会导致心肌坏死、心功能

受损,进而心功能受损,严重影响患者的生活质量。其中心肌细胞超微结构的改变是反映细胞损伤最直观的指标^[2]。研究发现缺血心肌细胞的核膜下可见大量炎性细胞浸润,说明缺血后心肌损伤坏死较为严重且有炎症反应的发生,这表明,炎症反应贯穿于心肌缺血损伤的全过程,细胞因子在其中发挥重要作用^[3]。心肌缺血损伤是一个包括中性粒细胞活化、多种细胞因子及粘附分子过度表达,伴有多种炎性介质及信号转导分子参加的复杂过程。

在临床上短暂而严重的心肌缺血,可以使左心室舒张期容量和压力增高,收缩功能减弱,心排出量下降,如在 20 分钟以内心肌恢复灌注,心功能可在数小时后恢复正常^[4]。如果持续地慢性心肌缺血,则会左心室功能受损,且长期心肌缺血导致心肌坏死和纤维化之后,左心室功能的损害不可逆转,从代偿转为失代偿,出现心力衰竭,严重影响患者的预后。

2 冠心病与炎症

冠心病的病变基础是粥样斑块,它的发生和发展是内皮功能失调和炎症反应相互作用导致的动态过程^[5]。正常情况下血管内皮细胞通过释放血管舒张因子和收缩因子并协调二者之间的平衡从而维持血管内环境的稳定。如果二者失衡,在炎症因子和心血管危险因子的作用下,脉管系统易于形成粥样斑块。在临床危险因子(如高血压、糖尿病、高脂血症等)存在的情况下,血管内皮的防御功能将会出现障碍,随后内皮的改变会引发血管壁的炎症反应,从而引发冠心病。内皮细胞的炎症反

作者简介 王稳(1986-),女,硕士研究生,主要研究方向 冠心病的临床与基础研究, E-mail: kll8038@126.com

△通讯作者 苟志平(1966-),男,硕士研究生导师, E-mail: gouzhiping126.com

(收稿日期 2011-10-24 接受日期 2011-11-16)

应可以增加许多炎症因子的表达,促进单核细胞的黏附作用。一旦发生黏附,单核细胞迁移到血管内膜的内皮细胞之间并转化成巨噬细胞,之后和平滑肌细胞(SMCs)一起吞噬大量脂质变成泡沫细胞,同时这些细胞还合成大量胶原纤维和多糖,沉淀在内膜下细胞外基质的脂肪、泡沫细胞残骸结合在一起形成粥样斑块。如果内皮功能障碍和炎症反应持续存在,动脉内膜损伤将会由脂质条纹发展为更严重的损伤。而且各种炎症细胞不断释放出细胞因子如 MCP 等,不但促进斑块内的炎症反应和脂质累积,还影响了 SMCs 的活性。在冠脉内,这种损伤的发展可以导致冠脉腔的狭窄、血流减少,进而诱发心绞痛,而新生的、易脆的血管可以引发斑块的急速扩张,最终将引起斑块的不稳定。

ACS 范畴的提出,为这类急危重症患者的诊断及治疗提供了很大的方便。ACS 是指在冠状动脉粥样硬化基础上斑块破裂,血栓形成或血管痉挛导致的急性或亚急性心肌缺血而出现的一组临床综合征,其范围涵盖了从不稳定型心绞痛、急性非 ST 段抬高的心肌梗死到 ST 段抬高的急性心肌梗死等一系列临床病理生理状态。ACS 是冠心病急症,严重危害人类生命和健康^[6-8],发病率和死亡率均较高。

ACS 发生的基础是动脉粥样硬化的不稳定。动脉粥样斑块,主要由血管平滑肌细胞和炎症细胞以及细胞外脂质所组成,可以分为两种:稳定斑块和不稳定斑块。动脉粥样硬化病变容易发生在剪切力低、血流紊乱以及血管搏动性大的部位 - 典型的易出现在分支血管的外壁,沿弯曲节段的内壁。影响其稳定性的三个主要的决定因素:富含脂质的核心大小和硬度、覆盖脂质的纤维帽的厚度、纤维帽内的炎症与修复过程。不稳定斑块炎症细胞浸润较重,基底部有大量新生微血管,质地软,脆性大,易发生破裂,血栓形成,从而引发 ACS 的发生。

3 再灌注与炎症

对于急性冠脉缺血后的治疗目前主张积极再灌注,而早期、持续、有效地开通梗死相关血管(infarct-related artery,IRA)是当前治疗 AMI 最有效的方法,使缺血心肌得到充分再灌注,明显地缩小心肌梗死面积,挽救左室功能,降低病死率^[9],从而显著地改善 AMI 患者的近期和远期预后。其方法包括溶栓和 PCI 治疗二者均可以开通 IRA,明显限制心肌坏死范围,拯救濒死心肌,降低急性期死亡率,改善左心室功能^[10,11],但是对于溶栓尚存在冠脉再开通率相对不高,再梗死率高,以及禁忌证和出血等不良反应,限制了其在临床工作中的进一步应用。而且与溶栓治疗相比,直接 PCI 可以在更短时间内处理闭塞血管,及时有效地再通 IRA,即时再通率高,充分恢复前向血流,使缺血心肌得到充分再灌注,进一步降低急性期死亡率,减少晚期缺血发生率,其结果优于单纯溶栓治疗^[12,13]。

随着冠心病介入技术日渐成熟,PCI 已经成为治疗急性心肌梗死,迅速有效地恢复心肌再灌注的首选疗法。然而 IRA 开通后,某些患者并没有从中获得预想的益处。近些年来国内外关于心肌缺血再灌注进行了大量的研究,将这种尽管患者冠脉 IRA 的阻塞性病变已经解除,但缺血局部心肌组织灌注并未完全恢复或无血流灌注的现象称为心肌“无复流”(no-reflow)现象,最终会导致心功能下降,病死率增加,使住院死亡和心肌梗

死发生率增加^[14],对患者近期或远期预后有严重的影响,大大减弱了介入治疗的临床获益,与恢复正常冠状动脉前向血流的病人相比。这些病人常在术后出现心功能不全和梗死后心绞痛。深入地观察研究 PCI 术后冠状动脉开通后心肌灌注状况,保证微循环的完整性,有效地使心肌组织获得良好的再灌注,可以进一步提高和完善 PCI 疗效。而且,及时地判定并治疗心肌灌注不良现象对防治心室重构及改善 AMI 患者预后有重要的临床价值和意义。

目前认为无复流发生的可能机制包括^[15]:(1)由于缺血引起细胞膜 Na^+/K^+ 泵功能障碍,从而使细胞内钠、水潴留,缺血区心肌细胞及血管内皮细胞发生肿胀,造成管腔狭窄,阻碍血液灌流,从而影响再灌注;(2)梗塞区心肌组织水肿,压迫微血管;(3)微血管结构破坏,通透性增强;(4)白细胞激活后粘附淤积在微血管。这些病理改变最终导致了心肌微循环障碍,进而致使心肌再灌注不良。

另一方面,由于 IRA 中存在血栓或不稳定斑块,在球囊扩张或放置支架的过程中就会被挤碎,造成远端血管的栓塞甚至完全阻塞,造成无复流^[16]。另外 PCI 操作、梗塞相关血管开通后血流的冲击,导致血栓或脂质斑块的粉碎,形成血栓或胆固醇“雨”,随之流入相应区域的远端微血管,斑块负荷过重或斑块不稳定,以及强烈的炎症反应状态等都可导致微小的心肌坏死,发生无复流^[17]。而且 PCI 过程实际上也是对血管从内膜到外层的损伤,这种损伤引起或导致了中性粒细胞、单核巨噬细胞等炎症细胞的聚集,从而使这些免疫活性细胞激活,导致炎症细胞因子的释放,同时,在行 PCI 时球囊充盈可暂时阻断冠状动脉血流,当球囊抽瘪后可恢复灌注,缺血-再灌注损伤也会造成炎症反应。进来许多研究表明,PCI 术后 CRP、IL-6、TNF- α 等炎症因子水平均有不同程度的升高,并且这些炎症因子水平变化的趋势一致。这些炎症因子可以作用于被损伤的部位,也可能作用于有病变基础的其他血管^[18]。如果作用于已经受到损害的微循环血管,会严重影响微循环的血流。

另外当发生严重心肌缺血和心肌损害时,刺激由心脏传入神经传入中枢神经系统的下丘脑部,从而增加肾上腺皮质激素的释放,引起皮质醇脉冲式释放,使其在血液中的水平升高。皮质醇可以导致外周血白细胞计数的升高。而且急性心肌梗死后白细胞大量浸润在缺血区,其变形力弱,通过毛细血管速度慢,更易阻塞缺血区毛细血管,加重心肌微循环障碍;并且梗死灶内的白细胞(主要是中性粒细胞)激活后产生多种递质和氧自由基作用于微循环,导致微血管无复流,心肌细胞功能障碍等,加重缺血性心肌损伤。

在 PCI 时血小板会通过各种途径被激活,并且聚集在心肌的毛细血管中,激活的血小板脱颗粒,释放多种血管活性物质和化学介质,都会造成微血管的阻塞^[19]。同时,冠脉内的操作会致交感神经兴奋,从而引起微小血管的痉挛。长病变的 PCI 需要多次进行球囊扩张及放置多个支架,因而具有更大的损伤性,也相对更容易出现再灌注不良。

4 心肌再灌注评价

目前虽然国内介入治疗已广泛开展,但是对心肌灌注方面

的研究仍显不足。对于 PCI 术后冠脉血流与心肌灌注的评价方法冠脉造影仍占主导。1985 年 TIMI 提出了评价 AMI 前向冠脉血流的等级的方法 -TIMI 血流分级法,但是存在明显的局限性及不足^[20]。该方法实为定性分析,存在一定主观性;TIMI2 级和 TIMI3 级血流间无明确分布界限;判定结果容易产生偏差;单次 TIMI 分级无法反映血流的动态变化,某一时刻血管通畅并不意味着血管能保持通畅;该分级没有考虑到心肌灌注水平,心外膜冠脉血流并不一定能真正反映组织水平灌注情况。而且在临床上出现了许多心外膜血流已达 TIMI3 级,而心肌组织并没有完全有效灌注的情况。从某中程度而言,TIMI 分级能否预测临床预后还存在争议^[21]。

目前在冠脉造影的基础上,运用 TIMI 心肌灌注分级 (TIMI myocardial perfusion grade, TMPG) 法评价无复流较为准确。TMPG 分级是 2000 年 Gibson^[22] 等提出了的新的灌注分级方法,不仅精确全面,还考虑到了造影剂从心肌的排空等因素,能直接反映心肌的灌注状态。TMPG 分级是通过分析造影剂在心肌中的填充和清除来进行评价,侧重于造影剂的排除时间。其中,TMPG 0 级,最小或无心肌显影;TMPG 1 级,心肌显影,且下次注射显影剂仍存在;TMPG 2 级,造影剂充填心肌,但清除缓慢,注射未持续存在;TMPG 3 级,造影剂正常充填心肌,清除亦正常。

5 展望

随着心血管介入治疗的飞速发展,人们已经认识到了 PCI 术后心肌灌注不良的危害和重要性。如何发现并避免支架术后心肌灌注不良现象的发生,在最大程度上改善患者的预后将成为介入治疗未来发展的一大难题。而且随着心血管疾病危险因素检测技术的提高,心肌灌注各种检测方法的推广,对了解或研究心肌缺血再灌注的发生机制、及时发现并积极预防和治疗再灌注不良将会有很大帮助,届时作为心血管疾病特别是 ACS 的独立预测因子炎症因子的水平降低到哪个特定的范围最合适将达成共识,介入治疗的预后也将会有很大突破。

参考文献 (References)

- [1] 薄海,何炜,刘子泉.非诺贝特在急性心肌缺血性损伤中的作用及机制探讨[J].中国急救复苏与灾害医学杂志,2008,3(5):264-267
Bo Hai, He Wei, Liu Zi-quan. Effects of fenofibrate on acute myocardial ischemic damage induced by isoproterenol: experiment with rats [J]. China journal of emergency resuscitation and disaster medicine,2008,3(5):264-267
- [2] 郑世营,张晓鹰,王志刚,等.参附注射液对离体大鼠缺氧/复氧心肌的保护作用[J].中国急救医学,2004,24(6):425-427
Zheng Shi-chang, Zhang Xiao-ying, Wang Zhi-gang, et al. Protective effect of compound Shenfu injection on isolated rat myocardium with anoxia/reoxygenation[J]. Chin J Crit Care Med,2004,24(6):425-427
- [3] Milne SE, Troy A, Irwin MG, et al. Relationship between bispectral index, auditory evoked potential index and effect-size EC 50 for propofol at two clinical end-Points[J]. Br J Anaesth,2003,90:127-131
- [4] 杨跃进,赵京林.急性心肌梗死再灌注治疗的现代观念[J].中国实用内科杂志.2006,26(15):1124-1128
Yang Yue-jin, Zhao Jing-lin. Modern concept of the Reperfusion therapy for acute myocardial infarction [J]. Chinese Journal of

practical internal medicine,2006,26(15):1124-1128

- [5] 林开敏,李卫华.炎症因子在冠心病事件中的临床价值[J].心血管病学进展.2007,28(1):81-84
Lin Kai-min, Li Wei-hua. The Clinical Significance of Inflammatory Factors in the Incidence of Coronary Artery Disease [J]. 2007,28(1): 81-84
- [6] Shen J, Zhang RY, Zhang Q, et al. Early impact of tirofiban on ST-segment resolution and clinical outcomes after primary PCI in patients with acute myocardial infarction [J]. Chin Circ J,2006,21(5): 326-329
- [7] Rezkalla SH, Kloner RA. No-reflow phenomenon [J]. Circulation, 2002,105:656-662
- [8] Li E, Fan CF, Liu ZF, et al. Effect of rosiglitazone on expression of cardioprotectin-1, angiotensin I in ventricular remodeling after acute myocardial infarction in rats [J]. J Pract Diagn Ther,2008,22 (2): 105-107
- [9] 汪涛,李恩,孙利强,等.急性心肌梗死患者常规急诊 PCI 与联合应用替罗非班在心肌灌注和临床预后的对比研究[J].第四军医大学学报,2009,30(16):1530-1533
Wang Tao, Li En, Sun Li-qiang, et al. Comparative study of primary percutaneous coronary intervention and Tirofiban combined with percutaneous coronary intervention in treatment of patients with acute myocardial infarction [J]. J Fourth MilMed Univ,2009,30 (16): 1530-1533
- [10] Marino P, Zanolta L, Zardini P. Effect of streptokinase on left ventricular remodeling and function after myocardial infarction:the GISSI trial[J].J Am Coll Cardiol,1989,14:1149
- [11] Aleksander D, Popovic MD, Alecsandar N, et al. Acute and long-term effects of thrombolysis after anterior wall acute myocardial infarction with serial assessment of infarct expansion and late ventricular remodeling. Am J Cardiol,1996,77:446
- [12] Lieu Gurley RJ, Lumdetorm T, et al. Primary angioplasty and thrombolysis for acute myocardial infarction:an evidence summary[J]. J Am Coll Cardiol,1996,27:737-750
- [13] De Bore MJ, Suryapranate H, Hoomtje JC, et al. Limitation of infarct size and preservation of left ventricular function after primary coronary angioplasty compared with intravenous strepto-kinase in acute myocardial infarction. Circulation,1994,90:753-761
- [14] 张春震,赵郁.冠状动脉无复流现象的防治进展[J].中国现代医生, 2008,46(10):24-26
Zhang Chun-zhen, Zhao Yu. Research Progress in Prevention and Treatment of Coronary No-Reflow Phenomenon [J]. China Modern Doctor,2008,46(10):24-26
- [15] 徐长春.急性心肌梗死急诊 PCI 支架术后无复流现象的相关因素分析[D].山东大学硕士学位论文,2008
Xu Chang-chun. Relative factors for angiographic no reflow phenomenon after primary percutaneous coronary intervention in patients with acute myocardial infarction[D]. Master's degree thesis of Shandong University,2008
- [16] Ten Hsun Chen, Chjung Jen Wu, Hsueh Wen Chan, et al. Effect and Safety of Intracoronary Thrombectomy Using Transradial Application of the PercuSurge Distal Balloon Protection System in Patients with Early or Recent Myocardial Infarction [J]. Catheterization and Interventional Cardiology,2004,102:206

(下转第 3777 页)

- reduces podocyte proliferation in vitro [J]. *Kidney Int*,2002,61(1):40-50
- [14] Xu ZG, Yoo TH, Ryu DR, et al. Angiotensin II receptor blocker inhibits p27Kip1 expression in glucose-stimulated podocytes and in diabetic glomeruli [J]. *Kidney Int*,2005,67(3):944-952
- [15] Pagtalunan ME, Miller PL, Jumping Eagle S, et al. Podocyte loss and progressive glomerular injury in type II diabetes [J]. *J Clin Invest*, 1997,99(2):342-348
- [16] Wu C. Roles of integrins in fibronectin matrix assembly [J]. *Histol Histopathol*,1997,12:233
- [17] Adler S. Characterization of glomerular epithelial cell matrix receptors[J]. *Am J Pathol*,1992,141(3):571
- [18] Chen HC, Chen CA, Guh JY, et al. Altering expression of alpha3beta1 integrin on podocytes of human and rats with diabetes [J]. *Life Sci*,2000,67(19):2345-2353
- [19] Kitsiou PV, Tzinia AK, Stetler-stevenson WG, et al. Glucose-induced changes in integrins and matrix-related functions in cultured human glomerular epithelial cells [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2003,284(4):671
- [20] 邢燕, 叶山东. 足细胞与糖尿病肾病关系的若干研究进展[J]. *国际老年医学杂志*, 2011,32(1):39-43
Xing Yan, Ye Shan-dong. Relationship between podocyte and diabetic nephropathy[J]. *International Journal of Geriatrics*,2011,32(1):39-43
- [21] Koop K, Eikmans M, Baelde HJ, et al. Expression of podocyte-associated molecules in acquired human kidney diseases[J]. *J Am Soc Nephrol*,2003,14(8):2063-2071
- [22] Siu B, Saha J, Smoyer WE, et al. Reduction in podocyte density as a pathologic feature in early diabetic nephropathy in rodents: prevention by lipoic acid treatment[J]. *BMC Nephrol*,2006,7:6
- [23] Goto H, Wakui H, Komatsuda A, et al. Renal alpha-actinin-4: purification and puromycin aminonucleoside-binding property [J]. *Nephron*,2003,93(1):27-35
- [24] Menini S, Iacobini C, Oddi G, et al. Increased glomerular cell (podocyte) apoptosis in rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus: role in the development of diabetic glomerular disease[J]. *Diabetologia*,2007,50(12):2591-2599
- [25] Asanuma K, Yanagida A, Asanuma E, Faul C, et al. Synaptopodin orchestrates actin organization and cell motility via regulation of RhoA signalling[J]. *Nat Cell Biol*,2006,8(5):485-491
- [26] White KE, Bilous RW, Marshall SM, et al. Podocyte number in normotensive type 1 diabetic patients with albuminuria [J]. *Diabetes*,2002,51(10):3083-3089
- [27] White KE, Bilous RW. Diabipsies Study Group. Structural alterations to the podocyte are related to proteinuria in type 2 diabetic patients [J]. *Nephrol Dial Transplant*,2004,19(6):1437-1440
- [28] Saleem M A, O'Hare M J, Reiser J, et al. A conditionally immortalized human podocyte cell line demonstrating nephrin and podocin expression[J]. *J Am Soc Nephrol*,2002,13(2):630-638
- [29] Cooper ME, Mundel P, Boner G. Role of nephrin in renal disease including diabetic nephropathy[J]. *Semin Nephrol*,2002,22(5):398
- [30] Roselli S, Gribouval O, Boute N, et al. Podocin localizes in the kidney to the slit diaphragm area [J]. *Am J Pathol*,2002,160(1):131-139
- [31] Kerjaschki D. Caught flat-footed: podocyte damage and the molecular bases of focal glomerulosclerosis[J]. *J Clin Invest*,2001,108(5):1583-1587

(上接第 3783 页)

- [17] Li G, Liu T. One of possible mechanisms on no-reflow in post-percutaneous coronary intervention: Coronary shock due to micro-coronary stunning[J]. *Med Hypotheses*,2005,65(4):814
- [18] 郝恒剑,李康,李耘,等. 冠状动脉介入治疗后快速进展性冠状动脉狭窄的探讨[J]. *中国介入心脏病学杂志*,2004,8(12):222
Hao Heng-jian, Li Kang, Li Yun, et al. Investigation of rapidly progressive coronary artery stenosis after Coronary intervention [J]. *China J Intervent Cardiol*,2004,8(12):222
- [19] William C. Dillon, MD, Djavid Hadian, MD, Michael E. Ritchie, MD, et al. Refractory No-Reflow Successfully Treated with Local Infusion of High-Dose Adenosine and Verapamil[J]. *Angiology*,2001,52:137
- [20] 马长生. 冠状动脉造影的血流与灌注评价. 见:马长生主编. 冠心病介入治疗 - 技术与策略[M]. 第 2 版. 北京:人民卫生出版社,2004,13
Ma Chang-sheng. Coronary blood flow and perfusion imaging evaluation [A]. MA Chang-sheng editor. *Percutaneous coronary intervention-Technology and Strategy* [M]. Beijing: People's Health Club,2004,13
- [21] Tan WA, Moliterno DJ. TIMI flow and surrogate end points: What you see is not always what you get[J]. *Am Heart*,1998,136:570-573
- [22] Gibson CM, Cannon CP, Murphy SA, et al. Relationship of TIMI Myocardial Perfusion Grade to Mortality After Administration of Thrombolytic Drugs[J]. *Circulation*,2000,101:125-130