

心力衰竭患者血清中Neuronostatin水平及其与心衰严重程度的关系

段传洲¹, 戴红艳², 管 军^{3*}

¹潍坊医学院, 临床医学院, 山东 潍坊

²青岛市市立医院, 保健四科, 山东 青岛

³青岛市市立医院, 心内科, 山东 青岛

Email: *guanjun@medmail.com.cn

收稿日期: 2020年12月14日; 录用日期: 2021年1月3日; 发布日期: 2021年1月18日

摘 要

目的: 观察心力衰竭患者血清中neuronostatin水平及其与心衰严重程度的关系, 探讨其临床意义。方法: 选择其中射血分数降低的62例心衰患者作为实验组, 并选取同期非心衰患者72例为对照组, 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定血清中neuronostatin水平。结果: 心衰组血清中neuronostatin的水平较非心衰组明显升高, 差异有统计学意义($p < 0.05$); 心功能III级neuronostatin的水平明显高于II级, 心功能IV级neuronostatin的水平明显高于II级, 差异均有统计学意义($p < 0.05$); 经Spearman相关分析, 心衰组NST的水平与不同心功能分级呈正相关($r = 0.649, p < 0.05$); 采用ROC曲线, neuronostatin诊断心力衰竭的AUC为0.944。结论: 血清中NST的水平升高可能与心力衰竭的发生发展有关, 且与心功能的分级呈正相关。

关键词

心力衰竭, Neuronostatin, 神经肽

Serum Neurostatin Level in Patients with Heart Failure and Its Relationship with the Severity of Heart Failure

Chuanzhou Duan¹, Hongyan Dai², Jun Guan^{3*}

¹Clinical Medical College, Weifang Medical University, Weifang Shandong

²The Fourth Department of Health Care, Qingdao Municipal Hospital, Qingdao Shandong

³Department of Cardiology, Qingdao Municipal Hospital, Qingdao Shandong

Email: *guanjun@medmail.com.cn

*通讯作者。

Received: Dec. 14th, 2020; accepted: Jan. 3rd, 2021; published: Jan. 18th, 2021

Abstract

Objective: To observe the serum neuronostatin level in patients with heart failure and its relationship with the severity of heart failure, and to explore its clinical significance. **Methods:** 62 patients with heart failure with reduced ejection fraction were selected as the experimental group, and 72 patients with non-heart failure during the same period were selected as the control group. The level of neuronostatin in serum was determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results:** The level of neuronostatin in the serum of the heart failure group was significantly higher than that of the non-heart failure group, and the difference was statistically significant ($p < 0.05$); the level of neuronostatin in cardiac function grade III was significantly higher than that in grade II, and the level of neuronostatin grade IV in cardiac function was significantly higher than that in grade II, and the differences were statistically significant ($p < 0.05$); Spearman correlation analysis showed that the level of NST in the heart failure group was positively correlated with different cardiac function classifications ($r = 0.649$, $p < 0.05$); ROC curve was used, and the AUC of neuronostatin for diagnosing heart failure is 0.944. **Conclusion:** The increased level of NST in serum may be related to the occurrence and development of heart failure, and is positively related to the grade of heart function.

Keywords

Heart Failure, Neuronostatin, Neuropeptide

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 前言

慢性心力衰竭是多种心脏疾病的终末期表现, 此时患者心脏功能显著下降, 多数伴有明显器质性改变, 治疗难度大, 预后也差[1]。2008年 Samon 等人基于进化保守序列以及可能的酶切位点进行生物学分析后, 在生长抑素前体蛋白的 N 端预测到了另一个多肽序列, 并从猪脾脏和胰腺中提纯到了内源性的多肽, 取名为 neuronostatin, 神经抑素或神经生长抑素, 简称 NST [2]。NST 的 C 端是进行高度酰胺化的线性肽, 与生长抑素的环状结构不同; NST 也在胰腺、心肌等组织中广泛表达, 虽然二者是由同一基因进行编码、同一前体蛋白加工修饰而成, 二者在不同组织中的含量是不同的: NST 在脾脏中最高, 生长抑素在下丘脑中最高, 表示二者存在不同的加工过程[2]。生长抑素能够抑制心脏收缩, 与之相似, NST 也能够抑制心脏收缩, 但二者抑制心脏收缩的机制是不一样的[3]。多项动物实验证实 NST 能够抑制心肌细胞的收缩, 但目前国内尚无心力衰竭患者血清 NST 水平的研究, 因此, 本研究的目的是初步探索心力衰竭患者血清中 NST 的水平及其临床意义, 现报告如下,

2. 资料与分析

2.1. 一般资料

选取自 2019 年 1 月~2019 年 12 月在青岛市市立医院东院收治住院的心力衰竭患者, 选取其中射血分数降低的 62 例作为心衰组, 并选取同期非心衰患者 72 例为对照组。纳入标准: 1) 心力衰竭组疾病诊

断参考《2018 中国心力衰竭诊断标准和治疗指南》[4]; 而心功能分级根据美国纽约心脏病学会(NYHA)心衰分级方案, 分为 II~IV 级。2) 年龄 40~90 岁; 排除标准: 与炎症和免疫相关的疾病如溃疡性结肠炎、支气管哮喘、结缔组织病、系统性红斑狼疮、恶性肿瘤、糖尿病等以及使用蛋白、抗炎及免疫抑制剂等治疗者。收集患者的年龄、性别、身高、体重、高血压病史、糖尿病史、冠心病史和吸烟史等一般资料。并根据身高、体重计算 BMI, 其中高血压、糖尿病、冠心病的诊断是根据高血压、糖尿病、冠心病的诊断和治疗指南来判定的。本研究经医院伦理委员会批准。所有患者均签署知情同意书。

2.2. 研究方法

所有患者均在入院后 24 h 内采集 2 份空腹静脉血。一份经离心、分离提取出血清, 保存在 -80°C 冰箱中直至进行 NST 的测定; 另一份送医院实验室行空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)、三酰甘油(triacylglycerol, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL)、高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)和 N 末端脑利钠肽前体(NT-proBNP)的测量。在住院当天有两名不参与实验的心脏超声专家进行心脏彩色多普勒超声检查, 测量左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)。血清中 NST 测定采用酶联免疫吸附试验(ELISA)法, 试剂盒(货号: JM-0890H1) 购自江苏晶美生物科技有限公司, 实验操作严格按照说明书。

2.3. 统计方法

基线数据中正态分布的连续性变量用均数和标准差表示, 采用两独立样本 t 检验进行统计分析; 非正态分布的连续性变量用中位数和四分位数表示, 采用两独立样本 Wilcoxon U 检验。NST 和 NT-proBNP 在不同心衰组中水平比较采用方差分析, 两两比较采用 Bonferroni 检验。NST 和 NT-proBNP 指标和生化指标相关采用 spearman 相关进行分析。心衰组中 NST 和 NT-proBNP 指标与心衰严重程度分析也采用 spearman 相关分析。心衰相关危险因素分析采用二分类多因素 logistic 回归分析。采用 ROC 曲线探究 NST 和 NT-proBNP 指标和两者联合对心衰的预测, AUC 及其 95%CI 代表各指标预测心衰的效果, 约登指数 = 灵敏度 + 特异度 - 1, 选择约登指数最大所对应的 NST 和 NT-proBNP 作为截断值。数据录入采用 Excel2010, 数据分析采用 SPSS22.0 均以 $p < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3. 结果

3.1. 心衰组与非心衰组一般资料比较

心力衰竭患者与非心衰患者相比在性别、BMI、HR、收缩压、LVEF、TC、FBG、HbA1C、NT-proBNP、NST、吸烟史、糖尿病史、冠心病史差异有统计学意义($p < 0.05$)。见表 1。

Table 1. Comparison of general data of heart failure group and non-heart failure group

表 1. 心衰组与非心衰组一般资料比较

项目	心衰组(n = 62)	非心衰组(n = 72)	t/卡方	p
年龄(岁)	73.306 ± 14.388	70.639 ± 8.943	1.265	0.209
Sex (F/M)	25/37	42/30	4.323	<0.001
BMI (kg/m ²)	24.325 ± 3.564	25.9965 ± 2.700	-3.082	0.003
HR(次/分)	76.435 ± 15.351	67.806 ± 9.606	3.828	<0.001
收缩压(mmHg)	127.758 ± 20.025	135.417 ± 17.100	-2.388	0.018
舒张压(mmHg)	74.113 ± 14.859	72.806 ± 9.619	0.594	0.554

Continued

LVEF (%)	28.548 ± 4.9012	59.125 ± 2.716	-43.684	<0.001
LDL (mmol/L)	2.279 ± 0.737	2.500 ± 0.7291	-1.738	0.085
TC (mmol/L)	3.825 ± 1.046	4.320 ± 1.0774	-2.687	0.008
HDL (mmol/L)	1.187 ± 0.662	1.206 ± 0.299	-0.202	0.841
FBG (mmol/L)	6.451 ± 2.214	5.441 ± 0.935	3.345	0.001
HbA1C (%)	6.453 ± 1.445	6.026 ± 0.889	2.022	0.046
NT-proBNP (mmol/L)	4272.010 (1651.908~8164.748)	117.670 (55.215~318.373)	-9.474	<0.001
NST (pg/ml)	18.160 (12.293~25.058)	6.447 (5.273~8.783)	-8.840	<0.001
吸烟史(是/否)	27/35	20/52	4.123	0.045
高血压史(是/否)	43/19	51/21	0.018	0.893
糖尿病史(是/否)	27/35	18/54	5/139	0.023
冠心病史(是/否)	43/19	36/36	5.157	0.023

3.2. NST 和 NT-proBNP 在不同心衰组中水平比较

非心衰组与心衰各级的 NST、NT-proBNP 不全相等, 差异有统计学意义($p < 0.01$)。心衰组中心功能 II 级、心功能 III 级、心功能 IV 级的 NST 的含量依次增加, 差异有统计学意义($p < 0.05$)。见表 2。

Table 2. Comparison of NST and NT-proBNP levels in different heart failure groups

表 2. NST 和 NT-proBNP 在不同心衰组中水平比较

	非心衰组	心功能 II 级	心功能 III 级	心功能 IV 级	F	p
NST	6.45 (5.27~8.78)	12.42* (11.75~12.99)	^a 18.35* (16.17~23.60)	^b 21.32* (17.43~26.67)	100.815	<0.001
NT-proBNP	117.67 (55.21~318.37)	1406.65* (1140.10~12991.51)	2889.24* (2185.35~3889.82)	5818.16* (226.05~8970.29)	94.408	<0.001

注: NST: *和非心衰组相比, $P < 0.001$ 。^a心功能 III 级与 II 级相比 $P < 0.05$, ^b心功能 IV 级与 III 级相比, $P < 0.05$ 。

3.3. Spearman 相关分析

心衰组中心衰程度和 NT-proBNP 相关($p < 0.05$), 相关系数 $R = 0.658$ 。心衰组中心衰程度和 NST 相关($p < 0.05$), 相关系数 $R = 0.649$ 。见表 3。

Table 3. Spearman correlation analysis of central failure degree and NT-proBNP, NST in heart failure group

表 3. 心衰组中心衰程度和 NT-proBNP、NST 的 Spearman 相关分析

	r	p
NT-proBNP	0.658	0.004
NST	0.649	0.021

3.4. NT-proBNP 和 NST 与各指标的 Spearman 相关分析

心力衰竭患者血清中 NST 的水平与 LVEF 呈负相关($r = -0.767$, $p < 0.001$)、与 TG 呈负相关($r = -0.307$, $p < 0.001$)、与 NT-proBNP 呈正相关($r = 0.694$, $p < 0.001$)、与 HbA1C 呈正相关($r = 0.179$, $p = 0.039$)、与年龄呈正相关($r = 0.320$, $p < 0.001$)。见表 4。

Table 4. Spearman correlation analysis of NT-proBNP and NST with each index
表 4. NT-proBNP 和 NST 与各指标的 spearman 相关分析

	NT-proBNP		NST	
	r	p	r	p
年龄	0.363	<0.001	0.320	<0.001
BMI	-0.242	0.005	-0.157	0.070
HR	0.315	<0.001	0.193	0.025
收缩压	-0.182	0.035	-0.134	0.124
舒张压	0.031	0.721	-0.048	0.584
LVEF	-0.794	<0.001	-0.767	<0.001
LDL	-0.203	0.018	-0.060	0.487
TC	-0.221	0.010	-0.085	0.327
TG	-0.298	0.001	-0.307	<0.001
HDL	-0.180	0.037	-0.116	0.183
FBG	0.061	0.487	0.114	0.188
HbA1C	0.179	0.039	0.179	0.039
NT-proBNP			0.694	<0.001

3.5. 心衰相关危险因素的 Logistic 回归分析

心力衰竭患者血清中 NT-proBNP ($p = 0.021$, OR = 1.006)、NST ($p = 0.026$, OR = 2.216)都是心衰的危险因素。见表 5。

Table 5. Logistic regression analysis of risk factors related to heart failure
表 5. 心衰相关危险因素的 Logistic 回归分析

	B	S.E	wald	OR	LL	UL	P
NT-proBNP	0.006	0.002	5.339	1.006	1.001	1.010	0.021
NST	0.796	0.358	4.946	2.216	1.099	4.469	0.026
年龄	-0.301	0.183	2.710	0.740	0.517	1.059	0.100
BMI	-0.407	0.355	1.315	0.666	0.332	1.335	0.251
TC	-2.696	1.879	2.059	0.067	0.002	2.681	0.151
收缩压	-0.103	0.076	1.865	0.902	0.777	1.046	0.172
FBG	1.722	1.279	1.813	5.595	0.456	68.586	0.178
HbA1C	1.885	1.230	2.351	6.588	0.592	73.344	0.125
冠心病史	-1.236	2.379	0.270	0.291	0.003	30.797	0.603

3.6. NST、NT-proBNP、以及二者联合诊断心力衰竭价值

采用 ROC 曲线, 根据 NST、NT-proBNP、以及二者联合诊断建立心力衰竭 ROC 曲线。如图 1。心衰患者血清中 NST、NT-proBNP、以及二者联合 AUC 大于 0.7, NST 以 9.872 pg/ml 作为临界值, 具有较好灵敏度和特异度。见表 6。

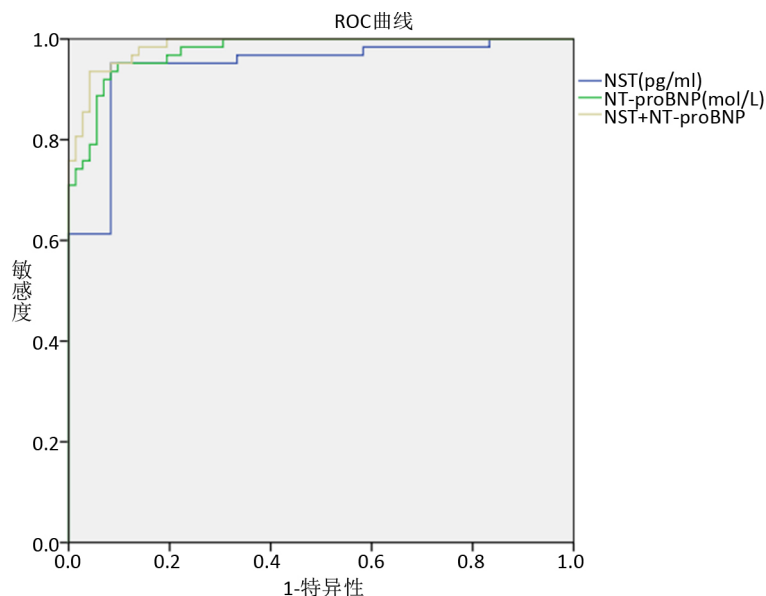


Figure 1. ROC curve of NST, NT-proBNP, and their combined diagnosis of heart failure

图 1. NST、NT-proBNP 以及二者联合诊断心力衰竭 ROC 曲线

3.7. ROC 曲线下面积, 灵敏度, 特异度

心衰患者血清中 NST、NT-proBNP、以及二者联合 AUC 大于 0.7, 有较高的诊断价值, NST 以 9.872 pg/ml 作为临界值, 具有较好灵敏度和特异度。见表 6。

Table 6. Area under ROC curve, sensitivity, specificity

表 6. ROC 曲线下面积, 灵敏度, 特异度

	AUC (95% CI)	灵敏度	特异性	Cutoff 值
NST (pg/ml)	0.944 (0.903~0.984)	0.952	0.917	9.872
NT-proBNP (mmolL)	0.976 (0.956~0.995)	0.952	0.903	849.665
联合	0.986 (0.972~0.999)	0.935	0.958	-

4. 讨论

心力衰竭往往是多种心血管疾病终末的临床综合征, 具有较高的发病率和病死率。其发病机制尚不完全清楚。NST 能降低左心室舒张最低压(LVDP), 降低左室内压变化速率(dP/dt), 减慢心率, 降低心肌细胞峰值缩短速度和细胞缩短及再延长最大速度, 不会影响峰值缩短的时间(TPS)和 90%的延长时间(TR90) [5], NST 是利用蛋白激酶 A 和/或 JNK 依赖性机制抑制心脏收缩功能, 这可能是二者在心脏上的膜受体不同造成的。我们可以得出 NST 可以导致心脏整体负性收缩反应。在离体灌流大鼠心脏和培养的原代心肌细胞中的实验中, 单独使用 NST 输注对左心室(LV)收缩性能没有显著影响[6]。但是, 我们发现联合应用神经生长抑素可显著减弱 ET-1 诱导的左室收缩反应, 同时还发现二者联合应用会显著增强 ET-1 所诱导的 p38MAPK 磷酸化[6]。虽然机制还不完全清楚, 但中心因素可能与肌丝对细胞内钙升高的脱敏有关[7]。有证据表明, 肌浆网 Ca^{2+} 处理不当会导致心肌收缩力降低[8] [9]。经过神经生长抑素治疗后, 发现小鼠心肌细胞肌浆网 Ca^{2+} 处理不当增加, 这可能是肌浆网 Ca^{2+} 负荷不佳而导致的细胞内 Ca^{2+} 利用率降低[9], 以及改变了肌丝对 Ca^{2+} 的敏感性有关[10]。从这些基础实验我们可以得出, NST 抑制心肌细胞

收缩的确切机制不清,但可以证实 NST 可以导致心脏整体负性收缩反应。

本实验数据显示,血清 NST 水平与血清 NT-proBNP 呈正相关,与左室射血分数(LVEF)呈负相关,心力衰竭患者不同心功能分级与 NST 水平存在相关性,随着心功能分级增加,血清 NST 水平逐渐升高,提示 NST 高表达慢性心力衰竭患者病情较重、预后较差。用 SPSS.22 软件进行 ROC 曲线分析,结果显示 NST 最佳相对表达水平临界值为 9.78 pg/ml,灵敏度 95.2%,特异性 91.7%,AUC 为 0.944。

综上所述,加强 NST 水平的检测对心力衰竭的诊断以及对其心功能分级判定有一定的辅助性价值。NST 可作为 NT-proBNP 等指标的重要补充手段,有潜力成为慢性心力衰竭的标志物,为慢性心力衰竭患者预后评估提供更多临床参考。考虑到本研究标本数量有限及国内外关于 NST 与心力衰竭的相关研究比较少,有关结论有待进一步扩大标本量再进行深入研究。

参考文献

- [1] Eleuteri, E., Magno, F., Gnemmi, I., et al. (2009) Role of Oxidative and Nitrosative Stress Biomarkers in Chronic Heart Failure. *Frontiers in Bioscience (Landmark Ed)*, **14**, 2230-2237. <https://doi.org/10.2741/3375>
- [2] Samson, W.K., Zhang, J.V., Avsian-Kretschmer, O., et al. (2008) Neuronostatin Encoded by the Somatostatin Gene Regulates Neuronal, Cardiovascular, and Metabolic Functions. *Journal of Biological Chemistry*, **283**, 1949-1959. <https://doi.org/10.1074/jbc.M804784200>
- [3] Hua, Y., Ma, H., Samson, W.K., et al. (2009) Neuronostatin Inhibits Cardiac Contractile Function via a Protein Kinase A- and JNK Dependent Mechanism in Murine Hearts. *American Journal of Physiology—Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, **297**, R682-R689. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00196.2009>
- [4] 中华医学会心血管病学分会心力衰竭学组, 中国医师协会心力衰竭专业委员会, 中华心血管病杂志编辑委员会. 中国心力衰竭诊断和治疗指南 2018 [J]. *中华心血管病杂志*, 2018, 46(10): 760-789.
- [5] Hua, Y., Ma, H., Samson, W.K., et al. (2009) Neuronostatin Inhibits Cardiac Contractile Function via a Protein Kinase A- and JNK Dependent Mechanism in Murine Hearts. *American Journal of Physiology—Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, **297**, B682-B689. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00196.2009>
- [6] Vainio, L., Perjes, A., Rytö, N., Magga, J., Alakoski, T., Serpi, R., Kaikkonen, L., Piuhola, J., Szokodi, I., Ruskoaho, H. and Kerkelä, R. (2012) Neuronostatin, A Novel Peptide Encoded by Somatostatin Gene, Regulates Cardiac Contractile Function and Cardiomyocyte Survival. *Journal of Biological Chemistry*, **287**, 4572-4580. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.289215>
- [7] Liao, P., Wang, S.Q., Wang, S., Zheng, M., Zheng, M., Zhang, S.J., Cheng, H., Wang, Y. and Xiao, R.P. (2002) p38 Mitogen-Activated Protein Kinase Mediates a Negative Inotropic Effect in Cardiac Myocytes. *Circulation Research*, **90**, 190-196. <https://doi.org/10.1161/hh0202.104220>
- [8] Hadri, L. and Hajjar, R.J. (2011) Calcium Cycling Proteins and Their Association with Heart Failure. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, **90**, 620-624. <https://doi.org/10.1038/clpt.2011.161>
- [9] Vafiadaki, E., Papatouka, V., Arvanitis, D.A., Kranias, E.G. and Sanoudou, D. (2009) The Role of SERCA2a/PLN Complex, Ca(2+) Homeostasis, and Anti-Apoptotic Proteins in Determining Cell Fate. *Pflügers Archiv*, **457**, 687-700. <https://doi.org/10.1007/s00424-008-0506-5>
- [10] Van der Velden, J., Merkus, D., Klarenbeek, B.R., James, A.T., Boontje, N.M., Dekkers, D.H., Stienen, G.J., Lamers, J.M. and Duncker, D.J. (2004) Alterations in Myofilament Function Contribute to Left Ventricular Dysfunction in Pigs Early after Myocardial Infarction. *Circulation Research*, **95**, e85-e95. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000149531.02904.09>